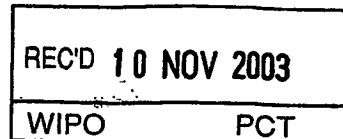


Rec'd PCT/HU 03/00078 07 APR 2005

10/530773  
PCT/HU 03/00078



MAGYAR KÖZTÁRSASÁG

# ELSŐBBSÉGI TANÚSÍTVÁNY

Ügyszám: P0303067

A Magyar Szabadalmi Hivatal tanúsítja, hogy

MOL Rt. Kutatás- Termelés Devízió, Szolnok,

Magyarországon

2003. 09. 18. napján 34410/03 iktatószám alatt,

Eljárás a kőolajtermelő kutakban és a felszíni termelő berendezésekben keletkező víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók petrol-biokémiai módszerekkel történő kezelésére

című találmányt jelentett be szabadalmazásra.

Az idefűzött másolat a bejelentéssel egyidejűleg benyújtott melléklettel mindenben megegyezik.

Budapest, 2003. év 10. hó 18. napján

*Szabó Emilné*  
A kiadmány hitelül: Szabó Emilné osztályvezető-helyettes

The Hungarian Patent Office certifies in this priority certificate that the said applicant(s) filed a patent application at the specified date under the indicated title, application number and registration number. The attached photocopy is a true copy of specification filed with the application.



**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

**BEST AVAILABLE COPY**

50 67/03

ELSŐBBSÉGI PÉLDÁNY

## **Eljárás a kőolajtermelő kutakban és a felszíni termelő berendezésekben ke- letkező víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók petrol-biokémiai módszerek- kel történő kezelésére**

- 5 A találmány tárgya eljárás víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának meg-  
előzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására, amely szerint tenzidet, viszkozitást  
nővelő anyagot, ipari felületaktív anyagot és kőolajkomponens vagy -származék bontására al-  
kalmas, legalább egyféle tenzidet termelő mikroorganizmusokat, továbbá kívánt esetben mik-  
roorganizmusok szaporodásához szükséges adalékanyagokat adunk a meglévő kőolaj/víz  
10 emulzióhoz vagy abba a kőolajjal érintkező eszközbe, amelyben meg kívánjuk akadályozni az  
emulzió kialakulását; a fenti anyagok bejuttatását követően a mikroorganizmusok élettevé-  
kenysége számára megfelelő hőmérsékletet biztosítunk; a mikroorganizmusokat meghatáro-  
zott ideig szaporodni és hatni hagyjuk; a kezelés hatását ellenőrizzük; és kívánt esetben az  
előző lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismételjük.
- 15 A világon kitermelt kőolaj 80%-át emulzió formában hozzák a felszínre, ezért az  
emulzióbontás a kőolajtermelés és előkészítés egyik legköltségesebb eljárása. Az emulziók  
kinetikai állandóságát a kőolaj természetes felületaktív komponensei, az aszfaltének, gyanták,  
és az úgynevezett szerves hidrofób paraffinszármazékok biztosítják [Li, Mingyuan, A.A.  
20 Christy, J. Sjöblom, „Emulsions - A Fundamental and Practical Approach.”, 157-172. old.,  
szerk.: J. Sjöblom, kiad.: Kluwer Acad. Publishers, Netherland (1992); J. Sjöblom,  
„Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology”, 412-414. old., kiad.: Marcel Dekker, Inc.  
New York (2001)]. Egyértelműen bizonyító erejű eredményeket publikált ezen a területen  
Graham [Graham, D.E., „Crude oil emulsions: Their Stability and Resolutions.”, „Chemicals  
25 in the Oil Industry.”, szerk.: Ogden, P.H., kiad.: Royal Soc. Chem. (1988)], aki egy strukturált  
paraffinbázisú kőolajat különböző hőmérsékleten tárolt, majd centrifugálásnak vetette alá, el-  
különítve ez által a kivált szilárd komponenseket, amely a reológiai jellemzők és a  
vízbeépítőképesség lényeges mértékű csökkenését eredményezte. Ha a kicentrifugált, főleg  
aszfaltént, gyantát és paraffint tartalmazó üledéket fokozatosan visszaadagolta a kőolajba, a  
30 reológiai jellemzők és az emulgeáló-képesség fokozatos növekedését tapasztalta. Puskás és  
szerzőtársai a kőolajtermelő kutakban kiváló aszfaltén- gyanta- paraffin- komplexből un.  
szerves hidrofób paraffinszármazékot (carbonyls) különített el, amely igen jó emulgeátornak

bizonyult [S. Puskás, J. Balázs, A. Farkas, I. Regdon, O. Berkesi, I. Dékány, „The significance of colloid hydrocarbon in crude oil production, Part I. New aspects of the Stability and rheological properties of water-crude oil emulsions.”, Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 113, 279-293. old. (1996)].

5 A természetes emulgeátorok a víz-kőolaj határfelületen felhalmozódva, csökkentik a határfelületi feszültséget, növelik a határfelületi viszkozitást, s így megakadályozzák a cseppek összefolyását. Korábbi kutatások kimutatták, hogy a kis határfelületi feszültség a stabilizáláshoz szükséges, de nem elégséges feltétel. A határfelületi reológiai vizsgálatok eredményeiből következik, hogy közvetlen kapcsolat van a határfelületi film rugalmassága, viszkozitása és az emulziók stabilitása között. [Lakatosné Szabó J., Lakatos L, „Kőolaj-víz rendszerek határfelületi reológiai tulajdonságai”, Magyar Kémiai Folyóirat 21, 385-393. old. (1985)].

10 Tekintettel arra, hogy a kőolaj és a rétegvíz rendkívül stabilis - sok esetben az alkalmazott fizikai és kémiai módszerekkel is nehezen bontható - víz/olaj vagy összetett olaj/víz/olaj és/vagy víz/olaj/víz típusú emulziót képez, szükségessé válik az iparban használatos emulzióbontó eljárások további fejlesztése. A témakör irodalmából és az ipari tapasztalatokból ismert, hogy minden lényeges emulzióbontási módszer hatékonysága egy sor fizikai-kémiai és technológiai jellemzőtől függ [Pordnjüsev, G.N., „Sztabilizacija i razrusenije نفتجانہ emulsij”, kiad.: Nedra (1982)].

15 Az emulzióbontás kulcsa, a víz- vagy olaj cseppek körüli emulgeáló film (határréteg) megtörése úgy, hogy az összefolyás (koaleszcencia) vagy gravitációs ülepedés bekövetkezzen. Ipari körülmények között az alábbi módszerek bármelyike vagy összessége alkalmazható e folyamat megvalósítására:

- Kis-turbulenciájú és kis-sebességű körülmények (kezelő edények) biztosítása melyek az olaj, víz és szilárd anyagok gravitációs szétválasztását és eltávolítását teszik lehetővé.
- Az emulzió hőmérsékletének növelése.
- Emulzióbontásra tervezett vegyszerek alkalmazása.
- Az összefolyást elősegítő elektromos mezők használata.
- Az emulzió fizikai tulajdonságainak megváltoztatása szerves hígító (pl. gázolin), vagy víz adagolásával.

30 Mivel a különböző kőolajokból igen eltérő szerkezetű és kinetikai állandóságú emulziók jöhetnek létre, minden felsorolt emulzióbontási eljárás egyedi, kvantitatíve csak a vizsgált rendszerre jellemző.

### Mechanikus eljárások

A mechanikai berendezések típusának kiválasztása elsősorban a korábbi tapasztalon alapul. Ahogy a kitermelt víz mennyisége változik az olajmező élettartama során, úgy bővül a meglévő kezelő berendezések sora a szükségletnek megfelelően.

5 Az emulzióbontásra használt korszerű készülékek két fő típusa: a szabadvíz leválasztók és az emulzióbontók. A szabadvíz leválasztó tipikusan olyan készülék, melyben a termelvényből a szabad víz leválasztása történik, még a tényleges emulzióbontás megkezdése előtt.

10 Az emulzióbontó berendezésben az emulziók bomlását hő bevezetésével, elektrosztatikus rácsok alkalmazásával vagy mechanikus, összefolyást segítő eszközök, úgymint a különböző betétek, vagy terelő rendszerek használatával segítik elő. A mechanikus emulzióbontás hátránya, hogy hatékonysága alacsony és csak a könnyen bomló emulziók bontására használható.

### Termikus eljárások

15 Az olajmezőben alkalmazott emulzióbontó technológiákban a hő bevitele rendszerint fokozza az emulzióbontás hatékonyságát. Nagyon ritkán előfordul, hogy a hő hozzáadása önmagában megfelelő emulzióbontást eredményez, ez olyan termelvények esetében lehetséges, amelyekben az elsődleges emulgáló anyag szerepét a paraffin játssza. A paraffin olvadáspontja ( $50-65^{\circ}\text{C}$ ) feletti hőmérséklet teljesen destabilizálhatja az emulziót.

20 A szakemberek előnyben részesítik a minimális mennyiségű hő bevitelét, mert így a könnyű párlatok nem vesznek el a gáz-gőz fázisban és a fűtőgázfogyasztás is minimalizálható. A termikus eljárás hátránya, hogy nagy stabilitású emulziók bontása csak magas hőmérsékleten,  $80^{\circ}\text{C}$  körül lehetséges, amely jelentős mennyiségű többlet energiát igényel, valamint számottevő a könnyű párlat veszteség.

### Elektromos eljárások

25 Az elektromos-mező hatást gyakorol a cseppecskék felületi feszültségére azáltal, hogy a poláris molekulákat átrendeződésre készíti. Ez az eljárás önmagában csak ritkán eredményez teljes emulzióbontást, ezért gyakran egészítik ki vegyszerek adagolásával, vagy a bontási hőmérséklet növelésével. Az elektromos eljárásokat csak viszonylag kis víztartalmú emulziók bontására alkalmazzák, mivel a nagymennyiségű szabad víz a bontást elősegítő rácsrendszerben rövidzárlatot okozhat.

### Vegyszeres eljárások

A kőolaj emulziók destabilizálásához rendszerint emulzióbontó vegyszerek alkalmazására van szükség, melyek elősegítik a diszpergált cseppeket stabilizáló határfelületi rétegek

felszakadását. A fázisok szeparálódásának elősegítéséhez azonban, az esetek többségében hőközlésre is szükség van. A vegyszeres emulzióbontó eljárások sikere az alábbi tényezőktől függ:

- Megfelelő mennyiségű, helyesen kiválasztott vegyszer folyamatos bevezetése az emulzióba.

- A vegyszer tökéletes elkeverése az emulzióban.
- Megfelelő hőmennyiség bevitele az emulzióbontás megkönnyítésére vagy teljes megoldására.

- A megbontott emulzió cseppjeinek szétválasztásához elegendő tartózkodási idő biztosítása a kezelő edényekben.

A vegyszeres emulzióbontási eljárás költségei viszonylag alacsonyak és üzemi leállás nélkül megvalósíthatók. Az alkalmazott vegyszereket akár menet közben lehet módosítani, váltogatni az emulzió tulajdonságaiban és a termelt, vagy feldolgozott nyersolajban bekövetkezett változásokhoz igazodva.

A hatékony üzemeltetés érdekében az emulzióbontó vegyszerek kiválasztásánál az első lépés a nyersolajok vagy emulziók minél tökéletesebb megismerése. Meg kell határozni a sűrűséget, a szilárdanyag- és víztartalom-tartományokat. A kőolajakat osztályozni kell, aszfaltén, vagy paraffinbázisú nyersolajokra és az aszfaltén ill. paraffin tartalmat is meg kell határozni. Ha az emulzióbontás a paraffin olvadáspontja alatti hőmérsékleten történik, akkor a nyersolaj zavarosodási pontját is meg kell állapítani. Ez az információ segít a kezelési hőmérséklet kiválasztásában.

Ismernünk kell a nyersolaj szervesanyag-tartalmát és benne lévő szilárd anyagok típusát. Ez után következik a határfelület vizsgálata, összetételének meghatározása. Ebből az információból számos kulcsfontosságú nyersolaj-emulgeátort azonosíthatunk, és a további kezelést igénylő határfelületi alkotórészeket felismerhetjük.

A emulzióbontó eljárások gazdaságossága a vegyszer helyes kiválasztásától, s alkalmazásától függ. Az emulzió típusát és a betáplált mennyiségeket tekintve, széles körben variálható rendszerek olyan vegyszereket igényelnek, melyek tág adagolási tartományban is hatékonyak. Azonban ha az alkalmazott vegyszerek nem rendelkeznek bontási tartománnyal, úgy a túlbontott vagy alulbontott állapotok jelentősen csökkentik az eljárás hatékonyságát.

A túlbontás tényét (melyben a főlös vegyszer gyakorlatilag stabilizál, vagy új emulzió típusokat képez) gyakran nagyon nehéz felismerni az ipari folyamaton belül.

Általában különféle mechanizmusokat vesznek alapul az emulzióbontók működésére vonatkozóan, de az mindenestre nyilvánvaló, hogy az emulzióbontó el kell, hogy érje az emulgeált csepp felületét és az azt körbevevő folyadékréteget. Az emulzióbontó vegyszerek rombolják a kőolajban található természetes felületaktív anyagokból, az olaj és a víz között létrejött határfelületet, s ebből kifolyólag lehetővé teszik a cseppek összefolyását és a víz leülepedését az emulzióbontó tartály aljára, valamint a kőolaj felúszását.

A használt emulzióbontó vegyszerek típusa általában a helyszíni adottságoktól, olaj-víz aránytól és a nyersolaj típusától függ. A hagyományos emulzióbontókat többnyire az alábbi típusú vegyszerekből állítják elő: poliglikolok és poliglikol észterek, etoxilezett alkoholok és aminok, etoxilezett gyanták, etoxilezett fenol-formaldehid gyanták, etoxilezett nonilfenolok, polihidrált alkoholok.

### **Mikrobiológiai eljárások**

Az emulzióbontásban új fejezetet nyitott a speciális baktériumok alkalmazása. A felszíni berendezésekben a kőolajemulziókhoz adagolt baktériumokkal is elősegíthetjük a fázis-szeparációt. Cairns és munkatársai kidolgoztak egy modellt az emulziók destabilizálására [W.L. Cairns., D.G. Cooper, N. Kosaric, „Bacteria-Induced Demulsification”, „Microbial Enhanced Oil Recovery”, 106-113. old. szerk.: Zajic J.E, D.C. Cooper, T.R. Jack, N. Kosaric, kiad.: Pennwell Publishing, Tulsa (1983); W.L Cairns, és mtsai., „Characterization of Nocordia amarae és a Potent Biological Coalescing Agent of Water-Oil Emulsions”, Applied and Environmental Microbiology, 362-366. old. (1982)]. A kutatásokat modell emulziókon végezték el. Ebben a modellben a baktériumsejtek a folyamatos fázisban diszpergált cseppek közötti „nedvesítő, összekötő hidakként” funkcionálnak. Az emulgeált cseppekkel érintkezésbe lépő baktériumok szétfeszítik a határfelületi-réteget és ennek eredményeként végbemegy a cseppek összefolyása, a koaleszcencia. A baktériumok hatása a sejtfal és a stabilizáló határreteg hasonló felületi hidrofóbitásának tulajdonítható. Ez a modell kibővíthető a metabolizmus különböző termékeinek (természetes felületaktív anyagok, szerves savak, alkoholok, stb.) közreműködésével történő emulzió-destabilizálási hatásokkal. A felületaktív anyagok azáltal segítik elő az emulzióbontást, hogy növelik a baktériumsejtek és a cseppeket stabilizáló határretek közötti adhéziót.

Majdnem minden gyakorlati alkalmazás során, a kialakult víz/kőolaj, kőolaj/víz mennyiségére vonatkozóan igen alacsony baktériumkoncentrációt használnak és ezért az általuk termelt természetes felületaktív anyagok koncentrációja nem elegendő a film fenntartásához. Ebből eredően, kicsi a valószínűsége, hogy a baktériumos kezelés növelni fogja az emulzió

„Mikroorganizmus” alatt a leírásban olyan egy- vagy többsejtű, mikroszkóppal látható élőlényeket (baktériumok, kéalgák, mikroszkopikus gombák és moszatok) értünk, amelyek a mikrobiológia vizsgálati körébe tartoznak.

5 „Mikroorganizmus-törzs” alatt mikroorganizmusok egyetlen sejtéből kiinduló tiszta tenyészetét értjük, előnyösen egy adott fajnak rendszeres továbbtenyésztésével fenntartott vagy fenntartható tenyészetét.

10 A leírásban „baktériumvivő-film” alatt kolloidkémiailag, fizikokémiailag szempontból folyamatos filmet értünk, amely jól kötődik szénhidrogénnel szennyezett fémfelületekhez, és egyúttal biztosítja az alkalmazott baktériumok számára az életműködésükhöz szükséges feltételeket. Előnyösen a film részét képezi az életképes, szaporodó baktériumréteg is.

Az alábbiakban röviden összefoglaljuk a találmány szerinti eljárást.

15 A találmány szerinti eljárásban tenzidtermelésre és kőolajbontásra szelektált mikroorganizmusokat alkalmazunk, és a kezelt csövekben megfelelő adalékanyagok kombinációjának alkalmazásával „baktériumvivő” filmet hozunk létre, amelynek jelenlétével biztosítjuk a mikrobák számára az életfeltételeiket és megfelelő működési körülményeiket. Ennek során az emulziók kialakulásának a gátlására használt mikroorganizmusok adalékait tenzid tulajdonságú és viszkozitást növelő anyagokkal egészítjük ki, melyek részben, vagy egészben biológiailag lebonthatók. Ez technológiai szempontból előnyös és egyben a mikrobák részére retard

20 szénforrásként is szolgálnak, s így alkalmazásukkal viszonylag hosszabb ideig biztosítjuk a mikrobáknak a csövek belső, fémes felületére jutását, ottani megtelepedését (megtapadást) és élettevékenységét. Különösen meglepő maga az a tény, hogy az adalékok találmány szerinti kombinációja lehetővé teszi az önfenntartó baktériumréteg tartós megmaradását a cső falán. Ez – ellentétben a fent ismertetett korábbi megoldásokkal – a felülettel érintkező kőolajban az

25 emulzió kialakulásának folyamatos megakadályozását teszi lehetővé. A baktériumréteg tartós fennmaradása a kőolajjal érintkező felületeken – bár nem kívánjuk a találmányt semmilyen mértékben elméleti megfontolások révén korlátozni – feltehetőleg az alkalmazott adalékok találmány szerinti kombinált hatásának az eredménye. Ebben a vonatkozásban különösen figyelemre méltó, hogy viszkozitást növelő adalékanyagok hozzáadásával a baktériumvivő filmmel

30 elérhető az eredendően viszkózus lerakódások megbontása, azaz azok viszkozitásának csökkentése.

A találmány egy további megvalósítási módja szerinti eljárásban tenzidtermelésre és kőolajbontásra szelektált mikroorganizmusokat alkalmazunk megfelelő adalékanyagok kom-

binációjával együtt, amelyek jelenlétével biztosítjuk a mikrobák számára az életfeltételeiket és megfelelő működési körülményeiket. Ebben a megvalósítási módban a baktériumvivő film kialakulása nem feltétlenül szükséges, de az alkalmazott megfelelően szelektált mikroorganizmus törzsek nagy hatékonysága elengedhetetlen a kívánt hatás, az emulziók megbontásának eléréséhez. Ennek a megvalósítási módnak a végrehajtása során az emulziók kialakulásának a gátlására használt mikroorganizmusok adalékait szintén tenzid tulajdonságú és viszkozitást növelő anyagokkal egészítjük ki, melyek részben, vagy egészben biológiailag lebonthatók. Ezáltal ezek egyben a mikrobák részére retard szénforrásként is szolgálnak, s így alkalmazásukkal viszonylag hosszabb ideig biztosítjuk a mikrobák élettevékenységét.

10 Ennek megfelelően a találmány tárgyát eljárás képezi víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására, amely szerint

a) tenzidet, viszkozitást növelő anyagot, ipari felületaktív anyagot és kőolajkomponens vagy -származék bontására alkalmas, legalább egyféle tenzidet termelő mikroorganizmusokat, továbbá kívánt esetben mikroorganizmusok szaporodásához szükséges adalékanyagokat adunk a meglévő kőolaj/víz emulzióhoz vagy abba a kőolajjal érintkező eszközbe, amelyben meg kívánjuk akadályozni az emulzió kialakulását;

15 b) az a) pont szerinti anyagok bejuttatását követően a mikroorganizmusok élettevékenysége számára megfelelő hőmérsékletet biztosítunk;

20 c) a mikroorganizmusokat meghatározott ideig szaporodni és hatni hagyjuk;

d) a kezelés hatását ellenőrizzük; és

e) kívánt esetben az a)-d) lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismételjük.

25 Egy előnyös megvalósítási mód szerint a találmány tárgya olyan eljárás, amely szerint a mikroorganizmusokat és az adalékokat egyidejűleg, vizes szuszpenzió formájában alkalmazzuk.

30 Egy további előnyös megvalósítási mód szerint mikroorganizmus-szuszpenzióként  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter élőcsíraszámú szuszpenziót alkalmazunk. A találmány szerinti eljárásban 100-1000 liter/100 méter csőhossz vagy  $50 \text{ m}^3$  termelvény, előnyösen 300-800 liter/100 méter csőhossz vagy  $50 \text{ m}^3$  termelvény, előnyösebben 500-600 liter/100 méter csőhossz vagy  $50 \text{ m}^3$  termelvény térfogatú szuszpenziót alkalmazunk.

Egy különösen előnyös megvalósítási mód szerint a találmány szerinti eljárásban 1-10



liter/100 méter csőhossz vagy 50 m<sup>3</sup> termelvény, előnyösen 1-5 liter/100 méter csőhossz vagy 50 m<sup>3</sup> termelvény térfogatú ipari felületaktív anyagot is alkalmazunk.

5 A találmány tárgyát képezi továbbá eljárás emulzió kialakulásának megelőzésére, amely szerint a fenti d) lépésben a kezelés hatásaként ellenőrizzük a kőolajjal érintkező felületen a mikroorganizmusok életfeltételeit biztosító, azokat tartalmazó film kialakulását, és kívánt esetben az a)-d) lépéseket a paraméterek megváltoztatásával — célszerűen a tenzid vagy a viszkozitást növelő anyag mennyiségének vagy a mikroorganizmusok szaporodási idejének változtatásával — ismételjük meg.

10 Egy előnyös megvalósítási mód szerint az eljárás alkalmazásával kőolajtermelő kutak termelőcsőveiben kialakuló emulzió keletkezését akadályozzuk meg.

Egy további előnyös megvalósítási mód szerint a mikroorganizmusokat 1-15 napig, előnyösen 6-8 napig hagyjuk szaporodni és hatni, mialatt a csövet lezárva tartjuk.

Egy másik előnyös megvalósítási mód szerint az eljárást kőolajtermelő kútban hajtjuk végre, és a kútban a geológiai viszonyok által meghatározott hőmérsékletet biztosítunk.

15 Egy még további megvalósítási mód szerint az eljárás részeként a termelőcső felületét előzetesen mechanikai úton az aszfaltén-gyanta-paraffin kiválásoktól megtisztítjuk.

A találmány tárgyát képezi eljárás, amely során a kezelés hatását próbaüzemeléssel és/vagy a fázisszeeparáció ellenőrzésével, és/vagy az olajminta fizikai-kémiai tulajdonságainak, előnyösen a viszkozitás csökkenésének vizsgálatával és/vagy az olajmintában a jellemző cseppméret mikroszkópos vizsgálatával hajtjuk végre.

20 A találmány tárgyát képezi kőolajtermelő kutak felszíni termelő berendezéseiben kialakult emulzió, vagy kőolajtermelő technológiák emulzióbontó berendezéseiben található nagystabilitású víz/kőolaj köztesfázisok megbontására szolgál eljárás is.

25 Egy előnyös megvalósítási mód szerint ebben az esetben a mikroorganizmusokat 1-15 napig, előnyösen 5-8 napig hagyjuk szaporodni és hatni, mialatt a berendezést lezárva tartjuk, és 20-60 °C, előnyösen 40-50 °C hőmérsékletet biztosítunk.

Egy előnyös megvalósítási mód szerint a kezelés hatását olaj- és/vagy vízminta fizikai-kémiai tulajdonságainak, előnyösen a viszkozitás csökkenésének vizsgálatával és/vagy az olajmintában a jellemző cseppméret mikroszkópos vizsgálatával hajtjuk végre.

30 Egy további előnyös megvalósítási mód szerint az eljárás, amely során felületaktív anyagként polioxietilén-éterek vagy -észterek bármelyikét vagy azok keverékét, előnyösen Tween 80-at alkalmazunk.

Egy még előnyösebb megvalósítási mód szerint az eljárásban viszkozitást növelő ada-

lékanyagként xantánt alkalmazunk.

A találmány tárgyát képezi továbbá kőolajkomponens vagy -származék bontására alkalmas, tenzidet termelő mikroorganizmus alkalmazása víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására.

5 Egy előnyös megvalósítási mód szerint az emulzió kialakulásának a megakadályozása a kőolajjal érintkező felületeken kialakított baktériumvivő film kialakulása útján történik.

Egy előnyösebb megvalósítási mód szerint a mikroorganizmus *Bacillus subtilis* fajba, *Bacillus cereus* fajba, *Pseudomonas* vagy *Xanthomonas* nemzetségbe tartozó fajba tartozó törzs, és előnyösen fakultatív anaerób.

10 Egy különösen előnyös megvalósítási mód szerint a mikroorganizmus törzs az alábbi szelekciós eljárással állítható elő:

i) kőolajkomponenst vagy -származékot tartalmazó filmet szénforrást nem tartalmazó minimál táptalajra viszünk fel,

15 ii) erre a táptalajra kőolajszennyezésből származó, mikroorganizmus-keveréket tartalmazó mintát oltunk le, és a leoltás után a táptalajt legalább addig inkubáljuk, amíg észlelhető mikroorganizmus-telepet kapunk, amennyiben azonban ez tetszőlegesen meghatározott időtartamon belül nem következik be, az i) és jelen ii) lépéseket megismételjük,

iii) a kapott telepekből származó mikroorganizmusok bontó aktivitását megvizsgáljuk a telepek környezetében és

20 iv) a kapott telepekből származó, bontó aktivitású mikroorganizmusok tenzidtermelő képességét ellenőrizzük.

Az alkalmazott mikroorganizmus a NCAIM-nál a NCAIM (P) B 1304, NCAIM (P) B 1305, NCAIM (P) B 1306, NCAIM (P) B 1307 vagy a NCAIM (P) B 1308 számon, 2002. április 17-én letétbe helyezett törzsek bármelyike vagy azok bármelyikéből származó törzs, és  
25 előnyösen genetikailag módosított, előnyösebben markerként genomjába beépített ismert szekvenciájú DNS-fragmentumot hordoz.

A találmány tárgyát képezi továbbá készlet víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására, amely készlet az 1. igénypont szerinti eljárásban alkalmazható mikroorganizmust, továbbá az 1-16. igénypont  
30 szerinti eljárás végrehajtására vonatkozó utasítást tartalmaz.

Egy előnyös megvalósítási mód szerint a találmány szerinti készlet fent meghatározott mikroorganizmusok közül egy vagy többfélét, valamint ezek szaporodásához szükséges adalékanyago(ka)t tartalmaz.

Egy további előnyös megvalósítási mód szerint a készlet felületaktív anyagot és/vagy viszkozitást növelő anyagot is tartalmaz.

Az alábbiakban ismertetjük a leíráshoz tartozó ábrákat:

5 Az 1. ábrán az első három Petri-csészében vékony szennyezőanyag-filmre leoltott, izolált baktériumok telepei láthatók. Megfigyelhető, hogy a telepek környezetében a felvitt szennyezőanyagokat átalakítják vagy elbontják, amit a kérdéses anyagok feltisztulása vagy elszíneződése jelez. Amennyiben a bontó aktivitást jellemezni kívánjuk, megmérhetjük a feltisztult (elszíneződött) sáv szélességét (átmérőjét).

10 A 2. ábrán a kapott mikroorganizmus-törzsek tenzidtermelő képességének ellenőrzését mutatjuk be hidrofíli-hidrofób cseppentési próba alapján. Jól látható a különbség a szétterülő és a nem nedvesítő csepp között.

15 A 3. ábrán különböző mikroorganizmus-törzsek gázkromatográfiás vizsgálattal jellemzett hatását mutatjuk be kétféle paraffinminta (V. jelű: 3.a és II. jelű: 3.b ábrák) teljes szénhidrogén-tartalmára 1 hetes inkubáció után. Az oszlopdiagramon az elbontatlan anyagok teljes görbe alatti területe és a lebontatlan mintára jellemző görbe alatti terület arányát tüntettük fel százalékban kifejezve. A vízszintes tengelyen feltüntetett jelzések a következő mikroorganizmus-törzseket jelentik:

Ref I	Hegrem*	
Ref II	Hegboost*	
A	MOL-2	NCAIM (P) B 1304
B	MOL-32	NCAIM (P) B 1305
C	MOL-51	NCAIM (P) B 1306
D	MOL-66	NCAIM (P) B 1307
E	MOL-107	NCAIM (P) B 1308
F	MOL-113	egy, általunk izolált Pseudomonas sp. törzs

\* Forgalmazza: Oil Cleaning Bio-Products Ltd. P.O.Box 46, Royston,

20 Hertfordshire SG8 9PD U.K. ld. a (mellékelt) terméktájékoztatókat.

Az alábbiakban ismertetjük a szabadalmi eljárás alkalmazásához tartozó ábrákat:

25 A 4. ábrán a Battonya-Kelet-51 jelű kőolajtermelő kút paraffinos-aszfalténes kiválásai ellen történt beavatkozások előtti, illetve a 3x-os kezelés utáni kőolaj minták folyásgörbéit mutatjuk be.

Az 5a. és 5b. ábrákon, a Battonya-Kelet-83 jelű emulzióminta, kezelés előtti, illetve kezelés utáni paraffinos-aszfalténes kiválásainak mikroszkópos képét mutatjuk be.

A 6. ábrán a Battonya-Kelet-83 kútból termelt emulzió stabilitását mutatjuk be a kezelés előtti, illetve a háromszori kezelés utáni olajminták alapján.

5 A 7a. és 7b. ábrán a ruzsai olajkutakból termelt emulzió stabilitását mutatjuk be kezelés előtt és különböző típusú kezelések után, valamint a kezelt minták összerázás előtti és utáni állapotát.

10 A találmány szerint emulzió bontására alkalmas, adott esetben azzal szemben ellenálló mikroorganizmusokat alkalmazunk. Az eljárás szerint az emulziót bontó/gátló mikrobákat izolálhatjuk előzetesen a termelő kutakból, vezetékekből, csövekből vagy kőolajtartályokból. De alkalmazhatunk a kereskedelemről beszerezhető, paraffinokat, gyantákat és aszfalténeket bontó és/vagy tenzideket termelő, a célra alkalmas mikroorganizmusokat, illetve ezek genetikailag módosított törzseit is. Az alkalmazott mikrobák hőmérsékleti igényüket tekintve lehetnek normál-közepes hőkedvelők (mezofilek), vagy a megszokottnál magasabb hőmérsékletet kedvelők (termofilek). Továbbá az oxigénigényük alapján anaerob és fakultatív anaerob mikroorganizmusok alkalmazhatók. Továbbá a célra alkalmazott mikrobák *in situ* olyan anyagokat (enzimeket és/vagy tenzideket) termelnek, amelyek képesek módosítani az emulziók szerkezetét, és ezáltal képesek fellazítani azokat és/vagy megakadályozni a kialakulásukat. Továbbá követelmény lehet, hogy az e célra alkalmazott mikroorganizmusok ne idézzenek elő sem növényi, állati, vagy emberi megbetegedéseket, azaz apatogéneknek kell lenniük. Más esetekben akár megbetegedést előidéző mikrobák is alkalmazhatók, amelyek később elpusztulnak. A szabadalom szerinti technológia megvalósítására alkalmas mikroorganizmusok – amint fent említettük – kereskedelmi forgalomban kaphatók, vagy más megoldásként a 25 *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.* egyes általunk izolált és markerezett törzseit alkalmazuk.

Ilyen, találmány szerint megfelelő mikroorganizmus törzseket a szakember számára ismert szokásos szelekciós módszerekkel lehet előállítani, megfelelő szelekciós tápközegen történő tenyésztéssel, és a kívánt növekedési sajátságokat mutató törzsek kiválasztásával. A 30 szelekcióhoz előnyösen szénhidrogénelegy bontására, lemosására, lerakódásának gátlására, elhárítására alkalmas, adott esetben azzal/azokkal szemben ellenálló, már ismert mikroorganizmusokból indulhatunk ki. Más megoldásként olajtermelő kutak csöveiben fellépő, különféle nyers kőolajokból, illetve olajtartályokból, esetleg olajjal szennyezett talajokból tenyésztethe-

tűnk ki baktériumokat, amelyeket azután nagy molekulatömegű aszfaltén-gyanta-paraffin kiválásokra gyakorolt hatásuk alapján szelektálhatunk. Ilyen szelekciós eljárást ismertet a P0203394 sz. szabadalmi bejelentés, amely hivatkozás útján a kitanítás részét képezi.

Egy előnyös megvalósítási mód szerint a találmány szerinti eljárásban alkalmazható mikroorganizmusokat az alábbi módon szelektálhatjuk ki:

i) kőolajkomponenst vagy -származékot tartalmazó filmet szénforrást nem tartalmazó minimál táptalajra viszünk fel,

ii) erre a táptalajra kőolajszennyezésből származó, mikroorganizmus-keveréket tartalmazó mintát oltunk le, és a leoltás után a táptalajt legalább addig inkubáljuk, amíg észlelhető mikroorganizmus-telepet kapunk, amennyiben azonban ez tetszőlegesen meghatározott időtartamon belül nem következik be, az i) és jelen ii) lépéseket megismételjük,

iii) a kapott telepekből származó mikroorganizmusok bontó aktivitását megvizsgáljuk a telepek környezetében és

iv) a kapott telepekből származó, bontó aktivitású mikroorganizmusok tenzidtermelő képességét ellenőrizzük.

A fenti eljárásban előnyösen fakultatív anaerób mikroorganizmust állítunk elő, azáltal, hogy anoxikus légzést elősegítő anyagokat, előnyösen elektronakceptorokat és/vagy oxigénforrásokat – célszerűen az alábbiak közül egyet vagy többet: Ti-vegyületek, Mn-vegyületek, nitrit, nitrát foszfát, pirofoszfát, szulfit, szulfát, piroszulfát ionok vagy sóik – tartalmazó minimális tápközeget alkalmazunk, és előnyösen a tenyésztést legalább egy ideig anaerob körülmények között végezzük.

A bontó aktivitást előnyösen a telepek közvetlen környezetében vett minták szennyezőanyag-koncentrációjának vizsgálata vagy a bontott felület átmérője alapján állapítjuk meg. Bontó aktivitásként előnyösen paraffinbontó vagy jellegzetes szennyeződések bontó enzimaktivitást vizsgálunk, előnyösen mintavétel, oldószeres extrakció, majd gázkromatográfiás vizsgálat útján.

A kapott telepekből származó mikroorganizmusok tenzidtermelő képességét egy előnyös lehetőségként hidrofil-hidrofób cseppentési próba alapján vizsgáljuk meg.

A bontó aktivitást előnyösen a telepek közvetlen környezetében vett minták szennyezőanyag-koncentrációjának vizsgálata vagy a bontott felület átmérője alapján állapítjuk meg. Bontó aktivitásként előnyösen paraffinbontó vagy jellegzetes szennyeződések bontó enzimaktivitást vizsgálunk, előnyösen mintavétel, oldószeres extrakció, majd gázkromatográfiás vizsgálat útján.

A kapott telepekből származó mikroorganizmusok tenzidtermelő képességét egy előnyös lehetőségként hidrofil-hidrofób cseppentési próba alapján vizsgáljuk meg.

5 Mikroorganizmusok környezetből történő izolálására ún. sterilizált "szilárd minimál táptalajt" vagy előnyösen "szilikagél szilárd táptalajt" alkalmazhatunk (például Petri-csészékben).

Amennyiben előnyösen aerob és anoxikus tevékenységre egyaránt képes mikroorganizmusokat izolálunk, célszerű anorganikus nitrogén, kén, foszforsókat és agar-agart tartalmazó táptalajt, előnyösebben sterilizált szilikagél szilárd táptalajt alkalmazni.

10 A szilárd minimál táptalajra előnyös valamely oldószerben, előnyösebb gyorsan illanó szerves oldószerben (alkoholban, acetonban, éterben), még előnyösebb pentánban, hexánban, esetleg toluolban oldott, a kérdéses hidrofób szennyező anyagot vagy egyéb lebontandó hidrofób anyagokat (például szénhidrogéneket, kőolajat, komponenseit, ezek származékait, stb.), meghatározott mennyiségben, vékony film formájában felvinni, s a kiválasztandó mikrobák tiszta tenyészetéből erre a "szennyezőfilm-rétegre" leoltást végezni, majd a készítményt meg-

15 felelő (pszichrofil, mezofil, termofil, illetve aerob, vagy anaerob) viszonyok között inkubálni. Bizonyos idő elteltével azok a mikrobák, melyek rezisztensek a kérdéses szennyező anyaggal szemben, s azt bontani képesek, rendszerint összefüggő, esetleg jellegzetes morfológiájú vagy pigmentációjú telepet képeznek.

Előnyösen a mikrobák a telepek környezetébe a lebontandó hidrofób anyagokat, például szénhidrogéneket bontó enzimeket, valamint tenzideket (felületaktív anyagokat) bocsátanak ki.

20

Az enzimtermelésnek egy jellemzője magának a telep környezetében feltisztult vagy elszíneződött sávnak a szélessége. Ez elsősorban az enzimtermelés intenzitására jellemző (1. ábra). A termelt enzim aktivitását például úgy állapíthatjuk meg, hogy a telepek környezetéből mintát veszünk és abban megvizsgáljuk a szennyezőanyag összetételét, például gázkromatográfias vizsgálattal. Az elegendően magas enzimaktivitást mutató mikroorganizmusokat kiválasztjuk.

25

A tenzideket termelő mikrobákat kiválaszthatjuk a minták hidrofil-hidrofób vizsgálata alapján (például víz-cseppentéssel, továbbá paraffin-cseppentéssel) (2. ábra).

30 Attól függően, hogy milyen körülmények között végezzük a mikrobák szelekcióját, azok bontási aktivitásán túl információt nyerhetünk azok életfeltételeiről is. Így például bioremediációra alkalmazott mikrobák lehetnek "hidegkedvelők" (pszichrofilek), közepes hőmérsékleteket kedvelők (mezofilek), vagy a megszokottnál magasabb hőmérsékletet kedve-

lők (termofilek).

Szénhidrogének bontására az említett szelekciós módszerünkkel *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.*, stb. mikroorganizmusokat izoláltunk kőolajjal szennyezett talajokból, melyek közül az alábbiakat Budapesten a National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms (1118 Budapest, Somlói út 14-16) gyűjteményében deponáltuk 2002. április 17-én:

MOL-jelzet:	Nyilvántartási szám:
MOL-2	NCAIM (P) B 1304
MOL-32	NCAIM (P) B 1305
MOL-51	NCAIM (P) B 1306
MOL-66	NCAIM (P) B 1307
MOL-107	NCAIM (P) B 1308

A mikroorganizmusok lehetnek genetikailag módosítottak, előnyösen markerként genomjukba beépített ismert szekvenciájú DNS-fragmentumot hordoznak.

10

A találmány előnyös megvalósítási módjai szerint az alkalmazott anyagok fizikai-kémiai értelemben jól kötődnek a szénhidrogénnel szennyezett fémfelületekhez. A kötődés eredményeképpen a szennyezett fémfelületeken az alkalmazott adalékanyagok vékony, folyamatos „baktériumvivő-filmet” képeznek. Ezen baktériumvivő film biztosítja az alkalmazott baktériumok számára az életműködésükhöz szükséges feltételeket. Ismételten hangsúlyozzuk, hogy a találmány szerinti megoldásban a szennyeződések eltávolítására alkalmazott eljárás során életképes, szaporodó baktériumréteget alakítunk ki a szennyezett csőfelületen. Ezen baktériumréteg az életműködése során a mikrobiológia eljárásoknál ismertetett hatásokat lokalizál, és a hatás szükséges helyére fókuszált módon biztosítja, ezáltal az eljárás javított, hatékonyabb módot nyújt az emulziók kialakulásának megakadályozására.

20

További előnyös megvalósítási módok szerint a találmány szerinti eljárással kőolaj-termelő kutak, azok kifolyó-kútvezetékei vagy olajszállító vezetékek csöveinek belsejében előzzük meg az emulzió kialakulását.

25

A találmány szerinti baktériumvivő film előnyös tulajdonsága, hogy azt az áramló szénhidrogénelegy sem képes rövid idő alatt lemosni. Ez elengedhetetlen ahhoz, hogy a kezelt olajkutak, csővezetékek, stb. a kezelést követően hosszú időn keresztül fenntartsák az életké-

pes, az emulziók keletkezését megakadályozó baktériumpopulációt, önfenntartó emulzióbontási és -gátlási mechanizmust biztosítva.

Egy előnyös megvalósítási mód szerint a találmány tárgyát olyan eljárás képezi, amely szerint a mikroorganizmusokat és az adalékokat egyidejűleg, vizes szuszpenzió formájában juttatjuk a hatás célzott helyére. A filmet alkotó filmképző polimer anyagok képesek a mikro-  
5    organizmusok jelentős részét szuszpenzióként a csőfalon tartani olyan formában, hogy nem gátolják azok szaporodását, és a metabolitok termelését. Ily módon a kezeléssel bevitt baktérium-szuszpenzió stabilan fennmarad a cső felszínén, és szaporodóképessége és anyagcseréje révén folyamatosan biztosítja az emulzió kialakulásának gátlását.

10    Az emulzióbontás hatékonyságát a fázisszeparáció kinetikájával, ill. a szeperáció hőmérséklettől- adalékanyagok minőségétől és mennyiségétől való függésével jellemezhetjük. Ha az emulzió stabilitás csökkenése nem jár egyértelmű fázisszeperációval, akkor a termelvény viszkozitásának csökkenése, illetve a cseppméret növekedése is jellemző lehet.

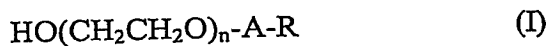
Az *in situ* emulzióbontásra alkalmazott *Bacillus subtilis* fajba, valamint a  
15    *Pseudomonas* vagy *Xanthomonas* nemzetségbe tartozó fakultatív anaerob törzsek Surfactin és Rhamnolipid alapú tenzideket termelnek. Ezek koncentrációja a tápoldat összetételétől, a hőmérséklettől, és a térfogategységenkénti baktérium számtól (esetünkben  $10^7$ - $10^8$  sejt/ml) függően 10-100 mg/l között változhat. A Rhamnolipid és Surfactin vizes oldatok kritikus micelláris koncentrációja sorrendben  $C_M=20$  és 11 mg/l. [Bognolo, G., „Biosurfactants as  
20    emulsifying agents for hydrocarbons, Colloids and Surfaces.”, A 52, 41.52 (1999)] A tenzidek a termelőcső falán történő képződési sebessége, ill. az emulziós termelvény időegység alatt áthaladt mennyisége és víztartalma alapján kiszámítható a tenzidek tényleges koncentrációja. Amennyiben ez adott esetben alacsonyabb is, mint az emulzió stabilizálásához szükséges  $C_M$  érték, arra viszont feltétlenül elegendő lehet, hogy elősegítse a baktériumok és az emulgeált  
25    cseppeket stabilizáló határrétegek kölcsönhatását, csökkentve ezáltal az emulzió stabilitását. Az egyes alkalmazott baktériumtörzsek kiválasztása abból a szempontból is jelentős lehet, hogy a tenzidtermelésük eltérő, valamint a termelt tenzidtől függően adott esetben az elért hatás az emulzió stabilizálása, nem pedig a destabilizálása.

A találmány szerinti eljárás során mikroorganizmus-szuszpenzióként  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter élőcsíraszámú szuszpenziót alkalmazunk. Az eljárás szerint 100–1000 liter/100 méter csőhossz, előnyösen 300-800 liter/100 méter csőhossz, előnyösebben 500-600 liter/100 méter csőhossz térfogatú szuszpenziót alkalmazunk.



Ezen előnyös megvalósítási módok szerint az alkalmazott kiindulási anyagokból képződött baktériumvivő filmben reprodukálódó baktériumok által termelt metabolitok és a tovább szaporodó baktériumok egy része bejut az áramló szénhidrogénelegyebe. Ezen mobilizált baktériumok és metabolitok, előnyös tenzid és detergens hatású anyagok további módot biztosítanak a baktériumvivő film esetleges regenerálására, és a film terjeszkedésére.

A csőfalon megtapadt baktériumvivő film a benne található baktériumokkal együtt hidrofizálja a fémfelületet. Ezt a hatást a mikrobák élettevékenységét károsan nem befolyásoló adalékanyagok felületaktív hatású komponensei révén segítjük elő. Az előnyösen alkalmazott felületaktív anyagok oktil- vagy nonilfenoxi-polietoxietanolok (például a kereskedelmi forgalomban kapható Triton™ sorozat), polioxietilén-szorbitán-észterek (Tween™ sorozat) vagy (I) általános képletű polioxietilén-éterek vagy -észterek:



amelyben  $n$  értéke 1-50, A jelentése kémiai kötés vagy  $\text{-C(O)-}$  csoport, R jelentése  $\text{C}_{1-50}$  alkilcsoport vagy fenil- $\text{C}_{1-50}$  alkilcsoport; vagy ezek közül kettő vagy több kombinációja. Előnyös megvalósítási mód szerint felületaktív anyagként polioxietilén-éterek vagy -észterek bármelyikét vagy azok keverékét, előnyösen Tween 80-at alkalmazunk.

A baktériumvivő film stabilitásának egyik fő biztosítéka az adalékokat tartalmazó elegy vízre vonatkoztatott relatív viszkozitását növelő, előnyösen makromolekuláris természetű anyagok alkalmazása. Ezek lehetővé teszik és erősítik a baktériumvivő film és a benne lévő baktériumok kezdeti megtapadást a cső belső felületén, és fenntartják a baktériumvivő filmet a felületen. Ilyen makromolekuláris, a találmány szerint alkalmazható komponensek nem korlátozó példái közé tartoznak szintetikus polimerek, mint például Carbopol, szupramil, vagy természetes polimerek, mint például a xantán, valamint egyéb vízdékony makromolekulák, keményítő, cellulózszármazékok, és hasonlóak. Mind a szintetikus, mind a baktériumoknak tápanyagul is szolgáló természetes alapú vízdíható polimerek elősegítik a tízed milliméter nagyságrendű vastagsággal rendelkező boifilm kialakulását a csőfalon ill. a tartályokban. Ezt a hatást a természetes polimerek csak rövid ideig tudják biztosítani, a biológiailag le nem bontható polimerekkel viszont tartós hatást érhetünk el. Ha a termelőcsőben, ill. a tartályban megkötődő polimerek mennyiségét jól határozzuk meg, akkor azok feleslege az emulzió vízfázisába jutva, már a viszkozitás növelése révén fázisszeparáció gátlást nem eredményezhet. A találmány egy különösen előnyös megvalósítási módja szerint viszkozitást növelő adalékanyag-

ként xantánt alkalmazunk. A tapadást gátló lerakódások mértékétől függően az adalékokat 1:3 - 3:1 arányban alkalmazhatjuk.

Az alkalmazott adalékok, amelyek a baktériumvivő filmet létrehozzák a csőben, további komponenseket is tartalmazhatnak, például oldásközvetítő anyagot, mint amilyenek például a dimetil-szulfoxid, celloszolv, metilcelloszolv, stb. A szintetikus akrilamid típusú polimerek és az oldásközvetítő anyagok jelentős mértékben hozzájárulnak a hosszantartó hatás létrejöttéhez.

Előnyösen a mikroorganizmusok életfeltételeit javító, szaporodásukat, és/vagy működésüket elősegítő, a baktériumvivő-filmet képző anyagokkal elegyíthető, azok hatékonyságát nem rontó adalékanyagokat juttathatunk be a rendszerbe. Ezen adalékanyagok biztosíthatják az alkalmazott mikroorganizmusok tápanyagigényét, azaz a nedvességet, elektronakceptorokat, makro- és mikroelemeket (szén, nitrogén, foszfor, kén, stb. iránti igényt kielégítő anyagokat) annak érdekében, hogy az aszfaltén-gyanta-paraffin kiválásokat hatékonyan gátoljuk, illetve elhárítsuk a kezelés alá vett csövekben.

Továbbá a fakultatív anaerob mikrobák tevékenységét előnyösen anoxikus légzést lehetővé tevő elektronakceptorokkal, általában nitrittel ( $\text{NO}_2$ ), nitráttal ( $\text{NO}_3$ ), foszfáttal ( $\text{PO}_4$ ), vagy szulfáttal ( $\text{SO}_4$ ) és/vagy ferri-sókkal biztosíthatjuk. Továbbá alkalmazhatunk ezeken kívül  $\text{PO}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{BO}_4$ ,  $\text{B}_2\text{O}_7$ , stb. sókat, vagy akár organikus elektronakceptorokat is (dehidro-aszkorbát, alfa-ketoglutarát, acetaldehid, piruvát, oxálacetát, fumarát, huminsavak, stb.) [Chih- Jen Lu, és mtsai., „The effect of electron acceptors on the nitrate utilization efficiency in groundwaters.”, „Hydrocarbon Bioremediation”, 469-474. old. szerk.: R. E. Hinchee B. C. és mtsai., kiad.: Lewis Publisher, Boca Raton, FL].

A találmány szerinti megoldásban alkalmazható előnyös adalékanyagok:

- (i) szénforrások: glükóz, szaharóz, laktóz, melasz, glicerin, acetát, xantán, stb.;
- (ii) nitrogénforrások: pepton, esszenciális aminosavak,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ , sók, stb.;
- (iii) foszforforrások:  $\text{PO}_4$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{P}_2\text{O}_7$ , stb. sók;
- (iv) kénforrások:  $\text{SO}_4$ ,  $\text{S}_2\text{O}_5$ , stb. sók.

A találmány szerinti eljárásban a mikroorganizmusokat 1-15 napig, előnyösen 6-8 napig hagyjuk szaporodni és hatni, mialatt a csövet/tartályt lezárva tartjuk. Amennyiben módunk van a felület, tartály vagy a csővezeték hőmérsékletét befolyásolni, azt olyan hőmérsékletűre állítjuk be, amelyen a baktériumok megfelelően szaporodnak és fejtik ki hatásukat, előnyösen optimális működési hőmérsékletük közelében. Az alkalmazott hőmérséklettartomány tipikusan 20-98 °C hőmérsékletet, előnyösen 40-80 °C, mérsékelt termofil baktériumoknál elő-

nyösen 50-70 °C, előnyösebben 60 °C körüli.

A találmány szerinti eljárásokban mikroorganizmusként előnyösen a leírásban definiált mikroorganizmusokat alkalmazzuk.

5 A találmány tárgyát képezi továbbá kőolajkomponens vagy -származék bontására alkalmas, legalább egyféle tenzidet termelő mikroorganizmus alkalmazása emulzió kialakulásának a megelőzésére vagy már kialakult emulzió bontására kőolajjal érintkező felületeken. Bizonyos megvalósítási módokban ezt a hatást stabil baktériumvivő film kialakítása útján érhetjük el.

10 Egy előnyös megvalósítási mód szerint a találmány tárgya olyan alkalmazás, ahol a mikroorganizmus *Bacillus subtilis* fajba, *Bacillus cereus* fajba, *Pseudomonas* vagy *Xanthomonas* nemzetségbe tartozó fajba tartozó törzs, és előnyösen fakultatív anaerób.

Egy különösen előnyös alkalmazás szerint a mikroorganizmus a NCAIM-nál a NCAIM (P) B 1304, NCAIM (P) B 1305, NCAIM (P) B 1306, NCAIM (P) B 1307 vagy a NCAIM (P) B 1308 számon, 2002. április 17-én letétbe helyezett törzsek bármelyike vagy 15 azok bármelyikéből származó törzs. A törzs lehet genetikailag módosított, előnyösen markerként genomjába beépített ismert szekvenciájú DNS-fragmentumot hordoz.

További megvalósítási módok szerint a találmány tárgya készlet emulzió kialakulásának megelőzésére vagy már kialakult emulzió bontására kőolajjal érintkező csővezetékben, amely készlet találmány szerinti eljárásban alkalmazható mikroorganizmust, továbbá találmány szerinti eljárás végrehajtására vonatkozó utasítást tartalmaz. 20

A találmány tárgyát képezi továbbá találmány szerinti készlet, amely a fent meghatározott mikroorganizmusok közül egy vagy többfélét, valamint ezek szaporodásához szükséges adalékanyago(ka)t tartalmaz. Előnyös megvalósítási mód szerint a készlet felületaktív anyagot és/vagy viszkozitást növelő anyagot is tartalmaz. 25

A találmányt előnyösen az alábbi ajánlott megvalósítási módok szerint valósíthatjuk meg.

#### I. ajánlott megvalósítási mód:

30 I.) A találmány szerinti preventív *in situ* eljárás során az alkalmazandó, a kőolajbontás és/vagy tenzidtermelés, valamint az emulzió-destabilizálás tekintetében kiválasztott mikroorganizmusokat magas —  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter — élőcsíraszámmal, nagy — 100-1000 liter/100 méter csőhossz, előnyösen 300-800 liter/100

méter csőhossz, előnyösebben 500-600 liter/100 méter csőhossz — térfogatban és 1-5 liter hozzáadagolt ipari felületaktív-anyag keverékkel együtt a kívánt termelőcsőbe juttatjuk, melyet előzetesen mechanikai úton kaparókéssel megtisztítottunk az aszfaltén-gyanta-paraffin kiválásoktól.

5 II.) A kezelést követően kívánt hőmérsékletet, optimális esetben 20-50 °C-t biztosítunk.

III.) A termelőcsövet kívánt ideig, 1-15 napig, előnyösen 6-8 napig lezárva tartjuk.

IV.) Ezt követően a kezelés hatását néhány napig tartó próbaüzemeléssel és/vagy a termelvényből vett olajminta fizikai-kémiai és mikroszkópos vizsgálatával ellenőrizzük.

10 V.) Kívánt esetben az I-III. pontban alkalmazott lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismételjük.

## II. ajánlott megvalósítási mód:

15 I.) A találmány szerinti preventív *in situ* eljárás során az alkalmazandó, a kőolajbontás és/vagy tenzidtermelés, valamint az emulzió-de stabilizálás tekintetében kiválasztott mikroorganizmusokat magas —  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter — élőcsíraszámmal, nagy — 100-1000 liter/100 méter csőhossz, előnyösen 300-800 liter/100 méter csőhossz, előnyösebben 500-600 liter/100 méter csőhossz — térfogatban és 1-5 liter hozzáadagolt ipari felületaktív-anyag keverékkel együtt áramlás közben a kívánt kút-  
20 kifolyóvezetékbe, gyűjtőtartályba vagy emulzióbontó tartályba juttatjuk.

II.) A kezelést követően kívánt hőmérsékletet, optimális esetben 20-50 °C-t biztosítunk.

III.) A termelvényt a gyűjtő- vagy emulzióbontó tartályban a kívánt ideig, 1-7 napig, előnyösen 2-3 napig pihentetjük.

25 IV.) Ezt követően a kezelés hatásának eredményeként szeparálódott vizet és kőolajat elszállítjuk, miközben az adott termelvényből vett olaj- és/vagy vízminta fizikai-kémiai és mikroszkópos vizsgálatával ellenőrizzük az emulzióbontás hatékonyságát.

V.) Kívánt esetben az I-III. pontban alkalmazott lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismételjük.

30

## III. ajánlott megvalósítási mód:

I.) A találmány szerinti preventív *in situ* eljárás során az alkalmazandó, a kőolajbontás és/vagy tenzidtermelés, valamint az emulzió-destabilizálás tekintetében kiválasztott mikroorganizmusokat magas —  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter — élőcsíraszámmal, nagy — 100-1000 liter/50 m<sup>3</sup> termelvény, előnyösen 300-800 liter/50 m<sup>3</sup> termelvény, előnyösebben 500-600 liter/50 m<sup>3</sup> termelvény — térfogatban és 1-5 liter/50 m<sup>3</sup> termelvény hozzáadagolt ipari felületaktív-anyag keverékkel együtt áramlás vagy keverés közben a kívánt gyűjtőtartályba vagy köztesfázis-kezelőtartályba juttatjuk.

II.) A bejuttatást követően kívánt hőmérsékletet, optimális esetben 40-50 °C-t biztosítunk.

III.) A baktérium szuszpenzióval elegyített köztesfázist, a gyűjtőtartályban vagy köztesfázis-kezelőtartályban a kívánt ideig, 1-15 napig, előnyösen 5-8 napig pihentetjük, és hagyjuk, hogy a baktériumok kifejtsék hatásukat. Közben 6-24 óránként mintavételezéssel ellenőrizzük a fázisok szeparációját.

IV.) A III.) pont szerinti idő leteltét követően a kezelt tartály teljes tartalmát átszivattyúzzuk egy átmeneti gyűjtőtartályba, majd az így átkevert köztesfázist visszaszivattyúzzuk az eredeti kezelőtartályba. A mintavételek gyakoriságát 1 minta/nap gyakoriságúra csökkentjük.

V.) Az 10-20. napon megszüntetjük a megbontandó köztesfázis melegítését, annak érdekében, hogy a kezelőtartályban megszűnjön a hőáramlatok okozta keverő hatás, és a fázisszeparáció felgyorsuljon.

VI.) Ezt követően a 11-21. napon, a kezelés hatásának eredményeként szeparálódott vizet és kőolajat átszivattyúzzuk két különálló tartályba további kezelésre, miközben az adott folyadékáramokból vett olaj- és/vagy vízminta fizikai-kémiai és mikroszkópos vizsgálatával ellenőrizzük a szeparálódás hatékonyságát.

VII.) A leülepedő víz és a felúszó kőolaj eltávolítása után a visszamaradt, a tartály alján összegyűlt szervesen szilárdanyagot fizikai úton eltávolítjuk.

VIII.) A két különálló tartályba átszivattyúzott anyagot újból felmelegítjük az optimális hőmérsékletre, majd hűlés közben 1-2 napig állni hagyjuk, s ezt követően a kiülepedő vizet és a felúszó kőolajat elvezetjük. A tartályok alján még esetlegesen kiülepedő szervesen szilárdanyagot eltávolítjuk.

IX.) Kívánt esetben az I-VIII. pontban alkalmazott lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismétljük.

Találmányi megoldásunkat az alábbi példákön mutatjuk be.

A. Mikroorganizmus törzsek szelektálása

5      **1. Példa — Tenyésztés minimál táptalajon**

10      A kérdéses lerakódást alkotó anyagot vagy egy komponensét (kőolajkomponenseket, például paraffinok, aszfaltének, maltének, stb., vagy kőolajszármazékokat) tartalmazó talaj-mintákból fiziológiás sóoldattal, vagy előnyösen bármely élettanilag alkalmazható, pH 6.5–7.5 kémhatású pufferral híg (1–20%-os) szuszpenziót készítettünk, ennek különböző hígításait un. “agar-agar minimál táptalajra” leoltottuk, s a kívánt hőmérséklen, előnyösen 0–80°C-on, tet-szőleges ideig, előnyösen 12–72 órán át inkubáltuk őket. Az izolált telepeket szennyezőanyag-bontási aktivitásuk alapján szelektáltuk.

15      Az “agar-agar minimál táptalaj” összetétele 1000 gr desztillált vízre számítva a követ-kező volt:

0,1 - 3 g, előnyösen 2.5 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   
0.1 - 3 “ “ 1.5 “  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   
0.1 - 3 “ “ 0.5 “  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
0.01- 3 “ “ 0.05  $\text{CaCl}_2$   
20      0.5 - 3 “ “ 2.0 “ agar-agar  
0.1 - 5 “ “ 1.5 “  $\text{NaNO}_3$ ,

25      Látható, hogy a táptalaj anoxikus légzést elősegítő ionokat ( $\text{PO}_4^{3-}$  ill. protonált formái,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ), azaz elektronakceptorokat tartalmaz, ami lehetővé teszi aerob és fakultatív aerob mikroorganizmusok szelektálását is.

Előnyösnek talált esetekben a fenti táptalajt kiegészítettük 1–50 ml, még előnyösebben 10 ml alábbi, 1000 ml-ben oldott nyomelemek törzsoldatával készítettük el:

30      0.1 – 0.5 g előnyösen 0.25 g  $\text{H}_3\text{BO}_4$   
0.1 - 1.0 “ “ 0.25 “  $\text{CoCl}$   
0.1 - 2.0 “ “ 0.25 “  $\text{CuCl}_2$   
0.05- 2.0 “ “ 0.25 “  $\text{FeSO}_4$   
0.01- 1.0 “ “ 0.025 “  $\text{MnCl}_2$ ,

0.01- 1.0 “ “ 0.025 “  $\text{NaMoO}_4$

0.01- 1.0 “ “ 0.025 “  $\text{NiCl}_2$

0.01- 1.0 “ “ 0.025 “  $\text{TiCl}_4$

5 A több oxidációs állapotú fémionok (pl. Ti-, Mn- és Mo-ionok) mint redoxrendszerek szintén elősegítik az anoxikus légzést.

## 2. Példa — Szilikagéles táptalaj

10 A szennyezett talajminták mikroflórája kitenyészhető steril, ún. “szilikagéles minimál táptalajon” is, mely az un. Vinogradszkij-féle szilikagéles szilárd táptalaj 1. példában megadott anyagokkal dúsított változata.

A “szilikagéles minimál táptalajon” termofil (50-80°C) és extrém módon termofil (80-110°C) mikroorganizmusokat is tenyészthettünk és szelektálhattunk.

## 3. Példa — Szennyezőanyag-bontó aktivitás vizsgálata

15 A “minimál táptalajokon” izolált mikroorganizmusok szennyező anyagokat bontó képessége is tanulmányozható ugyanezekben a táptalajokon. Ilyenkor úgy járunk el, hogy a kérdéses “minimál táptalajra” valamilyen oldószerben, előnyösen könnyen illékony oldószerben (alkohol, acetone, éter, stb.), hidrofób szennyező anyagok (pl. szénhidrogének, lipoidok, stb.) esetében még előnyösebben pentánban vagy hexánban oldva, az ismert szennyező anyagból vékony filmet rétegeztünk, s a vizsgálandó mikroorganizmusokat erre oltottuk le (1. ábra).

20 A leoltásokat kívánt hőmérsékleten és meghatározott oxigénkoncentráció mellett, tet-szőleges ideig, előnyösen 12-96 óráig, még előnyösebben 48 óráig inkubáltuk, s a képződött telepekkel ezt az eljárást néhányszor, előnyösen 2-3-szor megismételtük.

25 A kontrollált oxigénkoncentráció lehetőséget biztosított arra, hogy szelekciós módszerünket aerob, illetve anoxikus viszonyok között kivitelezve előnyösen olyan mikroorganizmusokat izoláljunk, amelyek mind aerob, mind pedig anoxikus viszonyok között kifejthetik aktivitásukat. Az ilyen fakultatív anaerobok izolálásakor tehát legalább a tenyésztés egy részét anoxikus körülmények között végeztük, a táptalajhoz pedig anoxikus légzést elősegítő anyagokat adtunk.

30 Ha az így izolált mikroorganizmusok a film formájában felvitt szennyező anyagokat telepeik környezetében átalakították vagy elbontották, ezt a kérdéses anyagok feltisztulása, vagy elszíneződése jelezte (1. ábra).

Az alábbiakban bemutatjuk, hogyan ellenőriztük a bontás hatékonyságát, a feltisztulási zónában az adott idő alatt elbontott szennyezőanyagok arányát (3. ábra), ezáltal a kiválasztott

enzimek aktivitását, valamint a lebontási folyamatokban előnyösen közrejátsszó, egyéb anyagok, közelebbről tenzidek megjelenését (2. ábra). Természetesen szakember erre a célra más módszereket is alkalmazhat.

#### 4. Példa — Mikroorganizmusok hatásának vizsgálata

##### Olajbontó enzimek aktivitása

Steril, 10 cm átmérőjű Petri-csészékbe töltött 15 ml "minimál agar-agar" vagy "minimál szilikagél" táptalaj felületére 5%-os, hexánban vagy toluolban oldott kőolaj-terméket rétegezzünk egyenletesen, s a képződött kőolaj filmre a szennyezett (talaj, talajvíz, stb.) környezetből vett mintákból kitenyésztett mikrobák (folyadék) tenyészetéből platinakacccsal vonalszerű leoltást végzünk, s a kívánt (aerob, vagy anaerob) körülmények között, s a választott hőmérsékleten (15-20, 30-35 vagy 50-85°C-on), a kívánt ideig (24-240 órán át) inkubáljuk, mindaddig, amíg a mikroorganizmusok jól látható telepet képeznek. Abban az esetben, ha a leoltott mikroorganizmusok telepei környezetében a "szénhidrogén-film" valamilyen változását (feltisztult udvar, elszíneződés, stb.) észleljük, e zónákból dugófúróval mintát veszünk, oldószerrel (hexán, toluol, stb.) extraháljuk és GC-vel megvizsgáljuk a kőolajtermék mennyiségét és a benne lévő komponensek összetételét.

Olajbontó enzim(ek) termelési hatékonyságának (beleértve a baktérium életképességét) jó jellemzője a feltisztult zóna szélessége. Az enzimek aktivitására pedig hatásuk alapján, a kőolajtermék szénhidrogén-komponenseinek csökkenése alapján következtethetünk.

Néhány izolált mikroorganizmus-törzs aktivitását az 1. és a 2. táblázatban mutatjuk be ismert törzsekével összehasonlítva. A táblázatokban a törzsek jelentése a következő:

BO-1:	Hegboost*	
RO-1:	Hegrem*	
A	MOL-2	NCAIM (P) B 1304
B	MOL-32	NCAIM (P) B 1305
C	MOL-51	NCAIM (P) B 1306
D	MOL-66	NCAIM (P) B 1307
E	MOL-107	NCAIM (P) B 1308
F	MOL-113	egy, általunk izolált Pseudomonas sp. törzs

\* Forgalmazza: Oil Cleaning Bio-Products Ltd. P.O.Box 46, Royston,

Hertfordshire SG8 9PD U.K.. ld. a (mellékelt) terméktájékoztatókat.

#### 1. táblázat



Baktérium csoportok hatása különböző molekulatömegű és o.p.-jú paraffinokra

Csoport jele	paraffin				
	DW 6266	DW 7580	DW 5456	DW 5658	DW 5052
BO-1 e	+ 6	+ 5	+ 6	+ 6-8	+ 4-7
RO-1 e	+ 6	+ 6	++ 4-11	+ 3-6	++ 5-12
A t	++++ 15-18	+ 5-8	+++ 10-15	++++ 11-19	+++ 11-16
B t	+++ 5-11	+ 5-6	+++ 10-15	++++ 13-20	+++ 10-16
C t	+++ 10-15	± 4	+++ 14-17	+++ 14-18	+++ 11-14
D e	+ 5-7	+ 4-5	++++ 10-22	++++ 10-34	+ 4-7
E e	+ 6-7	+++ 10-13	+++ 13-17	+++ 11-13	+++ 13-16
F e	++ 9-12	++ 6-10	++ 7-12	++ 4-10	++ 7-12

t = tenzid hatás, e = enzim tevékenység

aktivitás:

+ = csekély

++ = részleges

+++ = jó

+++ /++++ = kiváló

szám = bontott felület átmérője (mm)

2. táblázat

Különböző kőolajkiválások bontása baktérium csoportokkal 37 °C-on, 96 óra alatt

Jelzés	hidrofób	aszfaltén	maltén	5% aszfaltén + Alg #571 olaj
BO-1	+ 4-7	9	+ 4-7	++ 6-12
RO-1	+ 4-10	7	+ 4-8	++++ 15-18
A	+ 5	++++ 10-38	± 2	++++ 22-25
B	+ 4-8	++++ 14-20	+ 4-7	++++ 34-37
C	+ 4-6	++ 7-12	± 2-4	++++ 25-30
D	+ 3-6	+ 4	+ 4-8	++++ 30-35
E	++++ 22-25	+ 5-7	++++ 20-25	++++ 30-35
F	+ 4-5	+ 4-5	++++ 10-35	20-35

t = tenzid hatás, e = enzim tevékenység

aktivitás:

+ = csekély

++ = részleges

+++ = jó

+++ /++++ = kiváló

szám = bontott felület átmérője (mm)

10 Mint a 3. ábrát a táblázatokkal összevetve látható, izolált törzseink legtöbbjének enzimaktivitása GC-vel mérve vetekedett a technika állása szerinti törzsekével, a feltisztult terület, mint sáv átlagos szélességével (bontott felület átmérője) jellemzett bontási hatékonyságuk – szennyezőanyagtól függően – számos esetben szignifikánsan meghaladta azokét. Eljárásunkkal tehát célra szelektált, hatékony mikroorganizmusok állíthatók elő, és alkalmazási területüket előnyösen a leginkább hatékonyan bontott szennyezés fajtája szerint állapítjuk meg.

### Tenzidtermelés kimutatása hidrofil-hidrofób cseppentési próbával

Hasonlóképpen járunk el, mint az olajbontó enzimek kimutatása esetében, azzal a különbséggel, hogy a vizsgált mikroorganizmusok – választott körülményei között képződött te-  
5 lepei környezetében -, a feltisztult zónában desztillált vizet, vagy olvasztott paraffint cseppen-  
tünk a táptalaj felületére. A desztillált víz a tenzidet tartalmazó zónában szétterül, a fel nem  
tisztult (hidrofób) zónában viszont elmozdítható, gömbalakú cseppet képez. Az olvasztott pa-  
raffin csepp a tenzidet tartalmazó zónában szétterül, s ez elmozdítható, viszont a hidrofób zó-  
nában megtapad és helyzetéből nem mozdítható el (2. ábra).

10 A cseppek felületi határszöge mérhető mennyiség, amely akár a tenzidtermelés kvanti-  
tativ jellemzésére is alkalmas lehet, természetesen egyéb paraméterek (tenyésztési idő, csep-  
pentés helye) rögzítése esetén.

### B. Kőolaj-víz emulziók kezelése

15

#### 5. Példa — Kőolajkút preventív *in situ* kezelése

A szabadalmi leírásban ismertetett, I. megvalósítási ajánlás szerinti preventív *in situ*  
eljárást két kőolajtermelő kúton, — a Battonya-Kelet-16, -51 és -83 jelű, termelő kutakban —  
próbáltuk ki. A kezeléseket előtt a kutak termelőcsövét un. kaparókéses eljárással paraffintalaní-  
20 tották. A Battonya-Kelet-16 jelű kút termelőcsövének tisztítása heti 2 alkalommal történt,  
amelynek végén a lubrikátorcsövét le kellett dönteni a tisztítókés takarítása miatt. A paraffin-  
talanítás mélysége 350-400 m. A Battonya-Kelet-51 jelű kút naponta 3 alkalommal paraffin-  
talanították, és döntötték a lubrikátorcsövét. A Battonya-Kelet-83 jelű kút termelőcsövének  
tisztítása szintén heti 2 alkalommal történt, minden alkalommal kellett a lubrikátorcsövét  
25 dönteni annak érdekében, hogy a 300- 350 m mélységig le lehessen paraffintalanítani a terme-  
lőcsövet. Mind három kút stabil emulziót tereméit.

E kezeléseket során az 1500 m, illetve 2500 m mélységű termelő kutakba, 1000–1200 li-  
ter adalékot és  $10^{11}$ /liter élőcsiraszámú *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.* mikrobák (jelen  
példában NCAIM (P) B 1307, NCAIM (P) B 1308) keverékét alkalmaztuk, 3 alkalommal, a  
30 leírásban ismertetett módon.

Az alkalmazott adalékok összetételét az alábbi 3. táblázat tartalmazza.

### 3. Táblázat

Csőmunkálati folyadék összetétele. A feltüntetett adalékanyagok mennyisége 100 liter csőmunkálati folyadékra vonatkozik.

Komponens	Adalék mennyisége (g)	Előnyös mennyiség (g)	vegyes %
<u>Adalék/tápanyag</u>			
Glükóz	50-300	100	0,1
Szaharóz	150-1200	620	0,62
Pepton	10-100	40	0,04
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	20-400	140	0,14
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	30-500	125	0,125
<u>Poláros szerves oldószer</u>			
DMSO	60-1000	250	0,25
<u>Felületaktív anyag</u>			
Tween 80	10-100	25	0,025
<u>Viszkozitás növelő szer</u>			
Xantán	20-400	100	0,1

Eredmények:

5 A 4. ábra adataiból kitűnik, hogy az alkalmazott eljárás hatására szignifikáns mértékben csökken a termelvény viszkozitása.

Az 5. ábrák szerint a kezelések hatására megváltoznak, lazább szerkezetűvé válnak a kőolaj tömbfázisában található paraffinos-aszfalténes kiválások, s így azok nem képesek összefüggő térhálót kialakítani a víz-olaj határfelületen.

10 A 6. ábra adatai szerint a kezelések hatására, a Battonya-Kelet-83 jelű kút termelvénye tiszta kőolaj és vízfázisra válik szét. A kezelések során az olaj - és vízfázisok között kialakuló „habszerkezetű” köztesfázis mennyisége fokozatosan csökken.

15 Az itt ismertetett eljárással kezelt kőolajtermelő kutakban a termelt emulziók minőségének (folyási tulajdonságainak, megbomlásának) javulása, valamint a stabil emulziók kialakulásának gátlása a kutak esetében 12-24 hónap óta folyamatosan fennáll. A battonyai kutak által termelt emulzió stabilitása teljesen megváltozott. A kezelések után a termelt emulzió szeparációja nyugalomba jutás esetén azonnal megindul, s tiszta víz és olajfázisra szétválik.

## 6. Példa — Kőolajkút kifolyó vezetékének és gyűjtőtartályainak preventív *in situ*

### kezelése

A szabadalmi leírásban ismertetett, II. megvalósítási ajánlás szerinti preventív *in situ* eljárást a Rúzsza-15 jelű kőolajtermelő kút kifolyó-kútvezetékén és a Rúzsza gyűjtőállomás 50 m<sup>3</sup>-es gyűjtő tartályaiban próbáltuk ki.

E kezelések során a Rúzsza-15 jelű kőolajtermelő kút kútkörzetében a kifolyó-kútvezetékbe, a gyűjtőállomástól 1000-1500 m-re 1000 liter, illetve a gyűjtőállomáson levő három gyűjtőtartályból az 1. számúba szintén 1000 liter, 10<sup>11</sup>/liter élőcsiraszámú *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.* mikrobák (jelen példában NCAIM (P) B 1307, NCAIM (P) B 1308) mikrobát tartalmazó adalékot és 5-5 liter ipari felületaktív-anyag keverékét alkalmaztuk egy alkalommal, a szabadalmi leírásban ismertetett módon. Az alkalmazott adalékok összetételét a fenti 3. táblázat tartalmazza.

A 7a. és 7b. ábrákból látható, hogy az ismertetett petrol-biokémiai eljárással kezelt termelvény fázisainak szeparációja irreverzibilis módon végbement.

Az itt ismertetett eljárással kezelt kifolyó-kútvezetékben, gyűjtő és emulzióbontó tartályokban a termelt emulziók minőségének (folyási tulajdonságainak, megbomlásának) javulása, valamint a stabil emulziók kialakulásának gátlása tartályok esetében 2-4 hónap óta folyamatosan fennáll. A baktérium-szuszpenzió adagolása után a rúzsai termelvények kezelhetősége lényegesen javult. A fázis szeparáció mellett a szivattyúzhatóság és szállíthatóság problémamentessé vált.

## 7. Példa — Köztesfázis kezelése

A szabadalmi leírásban ismertetett, III. megvalósítási ajánlás szerinti eljárást megvalósítási ajánlás szerint a MOL Rt kardoskúti főgyűjtőjének T-201 jelű, 200 m<sup>3</sup>-es technológiai tartályában próbáltuk ki.

A tartályban, már három éve 138 m<sup>3</sup> köztesfázist tároltak, amelynek megbontását hagyományos módszerekkel, (80 °C-ra történő melegítés, viszkozitást csökkentő és emulzióbontó anyagok adagolása) többször megkísérelték.

A kezelés során egy 60 m<sup>3</sup>-es tartályban 2000 liter baktérium-szuszpenziót kevertünk össze a T-201 jelű tartályból származó, kb. 50 m<sup>3</sup>-nyi köztesfázissal, majd az egész keveréket visszaszivattyúztuk a T-201 jelű tartályba.

A tartályban levő köztesfázis hőmérsékletét  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  közelében tartottuk, és 6 óránként mintát vettünk a tartály oldalán, különböző magasságokban található szelepeken keresztül, s ellenőriztük azok víz- és baktériumtartalmát.

5 A kezelést követő 5. napon a T-201 tartály teljes tartalmát átszivattyúztuk a T-501 jelű tartályba, majd vissza a T-201 jelűbe. Átszivattyúzás közben 15 kg Servo CC8272 típusú emulzióbontó vegyszert adagoltunk a kívánt petrol-biokémiai hatás elérése érdekében. A mintavétel gyakoriságát egy minta/napra csökkentettük.

10 A kezelést követő 15. napon a tartályban levő köztesfázis melegítését megszüntettük. A következő napon vett minták alapján azt tapasztaltuk, hogy a tartályban levő köztesfázis egy része vízre, kőolajra, szervesetlen szilárd anyagra vált szét. A kivált szervesetlen szilárd anyag jelenlétére utalt az a tény, hogy a tartály aljától 40 cm magasan levő mintavevő szelepen keresztül vett minta, kiülepedésre hajlamos, a víz sűrűségénél nagyobb sűrűségű szemcsés anyagot (homokot) tartalmazott.

15 Miután több nap elteltével további javulást nem tapasztaltunk, ezért a T-201 jelű tartályból  $36\text{ m}^3$  folyadékot átszivattyúztunk a T-62 jelű  $60\text{ m}^3$ -es tartályba. Egynapi várakozás után ebből a tartályból  $22\text{ m}^3$  opálosan sárga vizet távolítottunk el. Ez a kezelt folyadékmenyiség 16%-a, amelyet a vízikvidáló rendszerbe szivattyúztunk.

20 Ezt követően a T-201 tartályban visszamaradt köztesfázist a szivattyúzhatóság érdekében újból felmelegítettük, s ezt követően átszivattyúztuk a T-62 és a T-65 jelű  $60\text{ m}^3$ -es tartályokba. Egynapi várakozás után a tartályok alsó felében kiülepedett vizet eltávolítottuk. A tartályok aljából további  $36\text{ m}^3$  rétegvizet szivattyúztunk át a vízikvidáló rendszerbe. Összesen  $58\text{ m}^3$  víz eltávolítása történt meg a petrol-biokémiai módszer alkalmazásával, ez az összes kezelt folyadékmennyiség 42%-a.

25 A T-201 jelű tartály aljára kiülepedett szerves szilárdanyagot, a tartály kibontása után szintén eltávolítottuk. Ennek mennyisége  $2\text{ m}^3$  volt.

A tartályokban felúszó, összesen  $78\text{ m}^3$  kőolajat a T-1001-es tartályba szivattyúztuk szállításra történő előkészítés végett.



## HEGBOOST

### TERMÉK BIZTONSÁGI ADATLAPJA

---1. kiadás---kelt: 1997. november 30.

I. SZÁLLÍTÓ: Oil-Cleaning Bio-Products Ltd., P.O. BOX 46, Royston, Hertfordshire

SG 9PD, U.K. Tel: (+44) (0)1763 287 749.

#### II. LEÍRÁS ÉS ÖSSZETÉTEL:

Általános leírás: Biológiailag lebontható folyadék, adalék a Hegrem márkan termékekhez a szennyezett talaj biológiai helyreállításának utolsó fázisában.

Összetétel: Felületaktív anyagok, habzsgátlók és baktérium-tápanyagok keveré szétválasztott korpa természetes baktériumokkal.

III. VESZÉLYFORRÁS AZONOSÍTÁSA: Az 1993-as The Chemical Hazards (Information & Packaging) Regulations (CHIP) (Rendelkezők a Kémiai Veszélyforrásokról (Tájékoztatás és csomagolás)) 5. rendelkezése értelmében történő kiszállít mellett az anyag nem tekintendő veszélyesnek. A gyártó ezt a tájékoztatást a CHIP 6. függeléke szerint, az 1974-es Munkaegészségügyi és Munkabiztonsági Törvény 6(4) §-a követelményeinek megfelelően adja.

#### IV. ELSŐSEGÉLY TÚLZOTT EXPOZÍCIÓ ESETÉN :

HEGBOOST VAGY BŐR: Nem várható problémák fellépése. Szükség esetén öblítés vagy mosás vízzel.

LENYELÉS: Hányingert okozhat. Bőségesen itassunk vizet, hánytatni nem szabad. Ha a rosszullét tartós, forduljunk orvoshoz.

BELEGZÉS: Problémák jelentkezése nem várható.

V: TŰZ- ÉS ROBBANÁS-VESZÉLYESSÉGI ADATOK, TŰZOLTÁS MÓDJA: Nem gyúlékony.

VI. ELJÁRÁS AZ ANYAG VÉLETLEN KISZABADULÁSA ESETÉN: Kis mennyiségű kiömlött anyagot a szennyvízelvezetőbe söpörhetünk. Nagyobb mennyiségeket itassunk fel abszorbenssel, helyezzük hulladéktároló konténerbe és kezeljük az idevonatkozó rendelkezéseknek megfelelően.

#### VII. A TERMÉK TÁROLÁSA ÉS KEZELÉSE:

TÁROLÁS: Hűvös, száraz helyen, közvetlen napsugárzástól védve. Ne tároljuk 5 °C alatt és 40 °C felett.

## HEGREM

### TERMÉK BIZTONSÁGI ADATLAPJA



ocpsda 5---6. kiadás

kelt: 1999. augusztus 18.

I. SZÁLLÍTÓ: Oil-Cleaning Bio-Products Ltd., P.O.BOX 46, Royston, Hertfordshire SG8 9PD, U.K. Tel: (+44) (0)1763 287 749

#### II. LEÍRÁS ÉS ÖSSZETÉTEL:

Általános leírás: Veszélytelen, biológiailag lebontható abszorbens és biológiai helyreállító szer.

Összetétel: Kezelt természetes cellulózrostokból álló szabadon folyó por, rostok saját természetesen előforduló baktériumaival.

III. VESZÉLYFORRÁS AZONOSÍTÁSA: Az 1993-as The Chemical Hazards (Information and Packaging) Regulations (CHIP)) (Rendelkezők a Kémiai Veszélyforrásokról (Tájékoztatás és csomagolás)) 5. rendelkezése értelmében történő kiszállítás és használat mellett az anyag nem tekintendő veszélyesnek. A gyártó ezt a tájékoztatást a CHIP 6. függeléke szerint, az 1974-es Munkaegészségügyi és Munkabiztonsági Törvény 6(4) S-a követelményeinek megfelelően adja.

Veszélyes összetevő: 29 CFR 1910: kellemetlen por.

Az USA Közlekedési Minisztériuma veszély-besorolása: nem veszélyes. Szállítási osztály: 50

#### IV. ELSŐSEGÉLY:

SZEMBE KERÜLÉS: Kivörösödést és irritációt okozhat. Kézmosás után vízzel öblítsük ki.

BŐRRE KERÜLÉS: Érzékeny bőrt ingerelhet. Nagyon érzékeny bőrűek viseljenek kesztyűt. Használat után szappanos kézmosás.

LENYELEÉS: Hányingert vagy hasmenést okozhat. Bőségesen itassunk vizet, hánytatni nem szabad.

BELÉGZÉS: Allergiásoknál kellemetlen érzést okozhat. Neheztől légzés esetén az érintettet vigyük friss levegőre.



Szabadalmi igénypontok:

1. Eljárás víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására, *azzal jellemezve*, hogy
- 5 a) tenzidet, viszkozitást növelő anyagot, ipari felületaktív anyagot és kőolajkomponens vagy -származék bontására alkalmas, legalább egyféle tenzidet termelő mikroorganizmusokat, továbbá kívánt esetben mikroorganizmusok szaporodásához szükséges adalékanyagokat adunk a meglévő kőolaj/víz emulzióhoz vagy abba a kőolajjal érintkező eszközbe, amelyben meg kívánjuk akadályozni az emulzió kialakulását;
- 10 b) az a) pont szerinti anyagok bejuttatását követően a mikroorganizmusok élettevékenysége számára megfelelő hőmérsékletet biztosítunk;
- c) a mikroorganizmusokat meghatározott ideig szaporodni és hatni hagyjuk;
- d) a kezelés hatását ellenőrizzük; és
- e) kívánt esetben az a)-d) lépéseket egymást követően legalább egyszer, előnyösen legalább 3-szor megismételjük.
- 15 2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikroorganizmusokat és az adalékokat egyidejűleg, vizes szuszpenzió formájában alkalmazzuk.
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy mikroorganizmus-szuszpenzióként  $10^6$ - $10^{12}$ /liter, előnyösen  $10^7$ - $10^{11}$ /liter, előnyösebben  $10^8$ - $10^9$ /liter
- 20 élőcsíraszámú szuszpenziót alkalmazunk.
4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy 100–1000 liter/100 méter csőhossz vagy  $50\text{ m}^3$  termelvény, előnyösen 300-800 liter/100 méter csőhossz vagy  $50\text{ m}^3$  termelvény, előnyösebben 500-600 liter/100 méter csőhossz vagy  $50\text{ m}^3$  termelvény térfogatú szuszpenziót alkalmazunk.
- 25 5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy 1-10 liter/100 méter csőhossz vagy  $50\text{ m}^3$  termelvény, előnyösen 1-5 liter/100 méter csőhossz vagy  $50\text{ m}^3$  termelvény térfogatú ipari felületaktív anyagot alkalmazunk.
6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás emulzió kialakulásának megelőzésére, *azzal jellemezve*, hogy a d) lépésben a kezelés hatásaként ellenőrizzük a kőolajjal érintkező felületen a mikroorganizmusok életfeltételeit biztosító, azokat tartalmazó film kialakulását, és kívánt esetben az a)-d) lépéseket a paraméterek megváltoztatásával — célszerűen a
- 30

tenzid vagy a viszkozitást növelő anyag mennyiségének vagy a mikroorganizmusok szaporodási idejének változtatásával — ismételjük meg.

7. A 6. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy kőolajtermelő kutak termelőcsöveiben kialakuló emulzió keletkezését akadályozzuk meg.

5 8. A 6. vagy 7. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikroorganizmusokat 1-15 napig, előnyösen 6-8 napig hagyjuk szaporodni és hatni, mialatt a csövet lezárva tartjuk.

10 9. A 6-8. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a kezelés hatását próbaüzemeléssel és/vagy a fázisszeeparáció ellenőrzésével, és/vagy az olajminta fizikai-kémiai tulajdonságainak, előnyösen a viszkozitás csökkenésének vizsgálatával és/vagy az olajmintában a jellemző cseppméret mikroszkópos vizsgálatával hajtjuk végre.

10. A 6-9. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a felületet előzetesen mechanikai úton az aszfaltén-gyanta-paraffin kiválásoktól megtisztítjuk.

15 11. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy kőolajtermelő kutak felszíni termelő berendezéseiben kialakult emulziót, vagy kőolajtermelő technológiák emulzióbontó berendezéseiben található nagystabilitású víz/kőolaj köztesfázisokat bontunk meg.

20 12. A 11. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikroorganizmusokat 1-15 napig, előnyösen 5-8 napig hagyjuk szaporodni és hatni, mialatt a berendezést lezárva tartjuk.

13. A 11. vagy 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy 20-60 °C, előnyösen 40-50 °C hőmérsékletet biztosítunk.

25 14. A 11-13. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a kezelés hatását olaj- és/vagy vízminta fizikai-kémiai tulajdonságainak, előnyösen a viszkozitás csökkenésének vizsgálatával és/vagy az olajmintában a jellemző cseppméret mikroszkópos vizsgálatával hajtjuk végre.

15. Az 1-14. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy felületaktív anyagként polioxietilén-éterek vagy -észterek bármelyikét vagy azok keverékét, előnyösen Tween 80-at alkalmazunk.

30 16. Az 1-15. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy viszkozitást növelő adalékanyagként xantánt alkalmazunk.

17. Kőolajkomponens vagy -származék bontására alkalmas, tenzidet termelő mikroorganizmus alkalmazása víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására.

5 18. A 17. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az emulzió kialakulásának a megakadályozása a kőolajjal érintkező felületeken kialakított baktériumvivő film kialakulása útján történik.

10 19. A 17. vagy 18. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a mikroorganizmus *Bacillus subtilis* fajba, *Bacillus cereus* fajba, *Pseudomonas* vagy *Xanthomonas* nemzetségbe tartozó fajba tartozó törzs, és előnyösen fakultatív anaerób.

20. A 17-19. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, ahol a mikroorganizmus törzs az alábbi szelekciós eljárással állítható elő:

i) kőolajkomponens vagy -származékot tartalmazó filmet szénforrást nem tartalmazó minimál táptalajra viszünk fel,

15 ii) erre a táptalajra kőolajszennyezésből származó, mikroorganizmus-keveréket tartalmazó mintát oltunk le, és a leoltás után a táptalajt legalább addig inkubáljuk, amíg észlelhető mikroorganizmus-telepet kapunk, amennyiben azonban ez tetszőlegesen meghatározott időtartamon belül nem következik be, az i) és jelen ii) lépéseket megismételjük,

20 iii) a kapott telepekből származó mikroorganizmusok bontó aktivitását megvizsgáljuk a telepek környezetében és

iv) a kapott telepekből származó, bontó aktivitású mikroorganizmusok tenzidtermelő képességét ellenőrizzük.

25 21. A 17-20. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, ahol a mikroorganizmus a NCAIM-nál a NCAIM (P) B 1304, NCAIM (P) B 1305, NCAIM (P) B 1306, NCAIM (P) B 1307 vagy a NCAIM (P) B 1308 számon, 2002. április 17-én letétbe helyezett törzsek bármelyike vagy azok bármelyikéből származó törzs, és előnyösen genetikailag módosított, előnyösebben markerként genomjába beépített ismert szekvenciájú DNS-fragmentumot hordoz.

30 22. Készlet víz/kőolaj és/vagy kőolaj/víz emulziók kialakulásának megelőzésére és/vagy már kialakult emulziók megbontására, amely készlet az 1. igénypont szerinti eljárásban alkalmazható mikroorganizmust, továbbá az 1-16. igénypont szerinti eljárás végrehajtására vonatkozó utasítást tartalmaz.

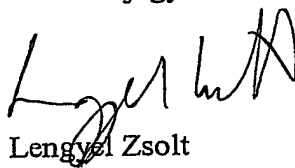
23. A 22. igénypont szerinti készlet, amely a 17-21. igénypontok bármelyikében meghatározott mikroorganizmusok közül egy vagy többfélét, valamint ezek szaporodásához szükséges adalékanyag(ka)t tartalmaz.

24. A 22. vagy 23. igénypont szerinti készlet, amely felületaktív anyagot és/vagy viz-  
5 kozítást növelő anyagot is tartalmaz.

A meghatalmazott:

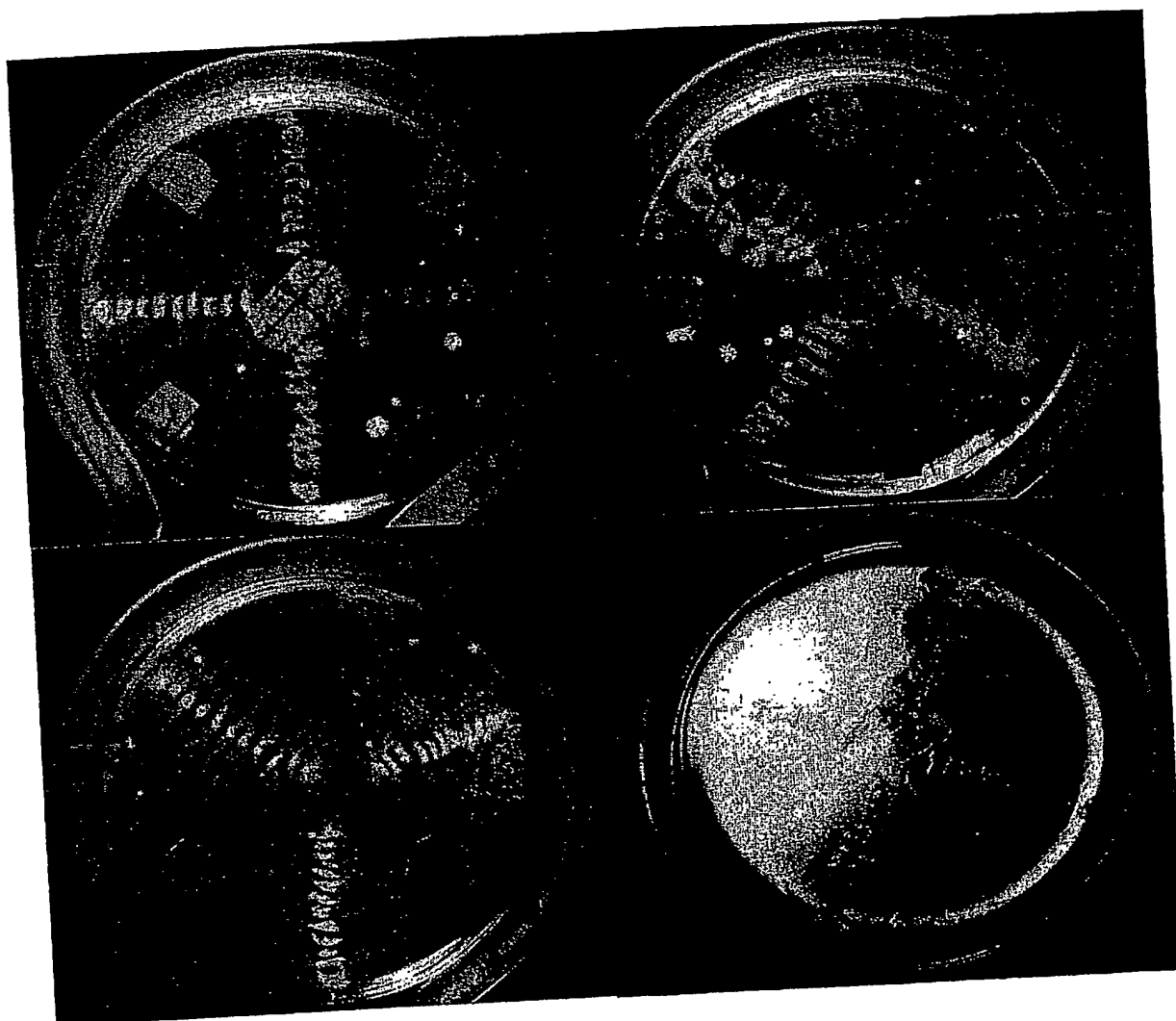
DANUBIA

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

0  
D  


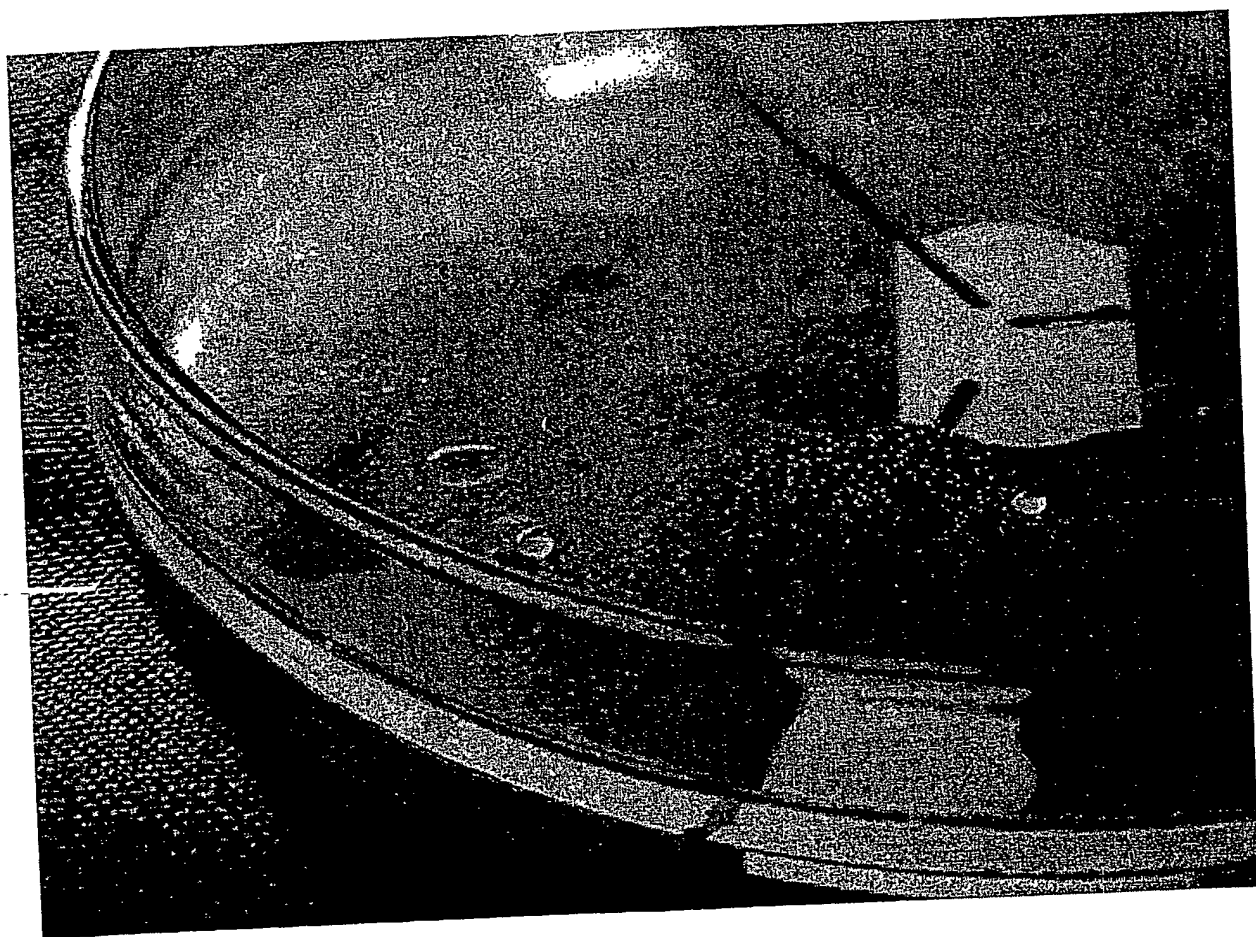
Lengyel Zsolt  
szabadalmi ügyvivőjelölt

# Olajbontó törzsek szelektálása

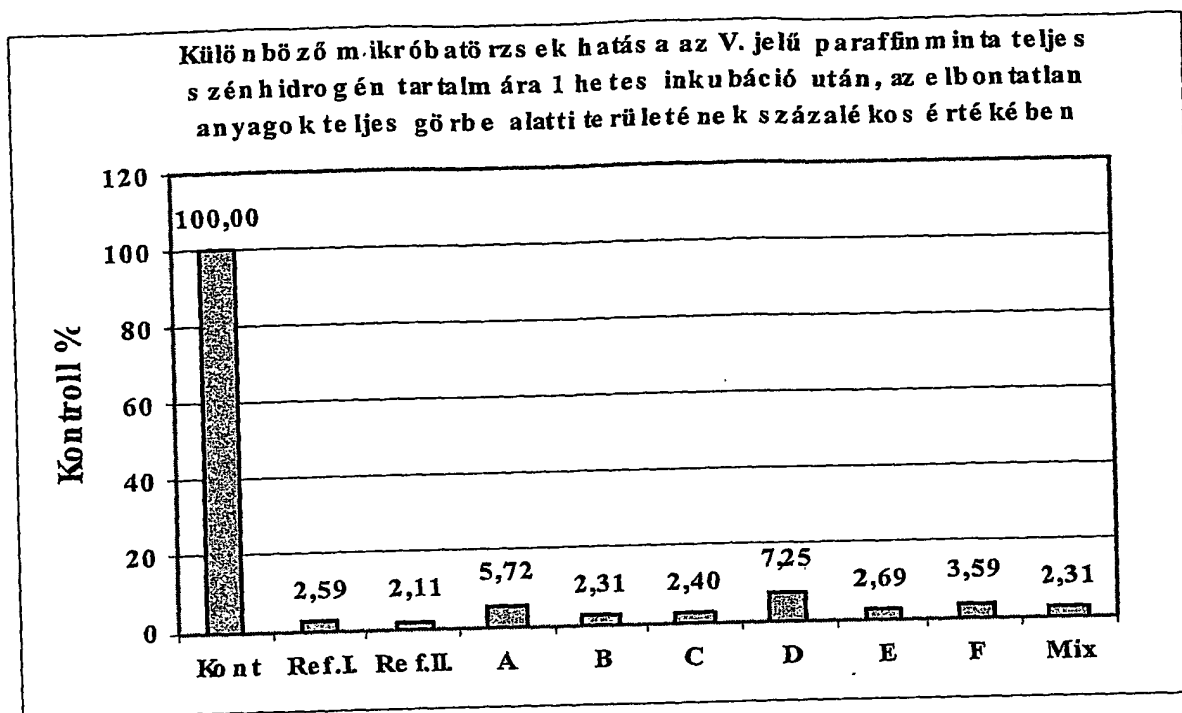


1. ábra

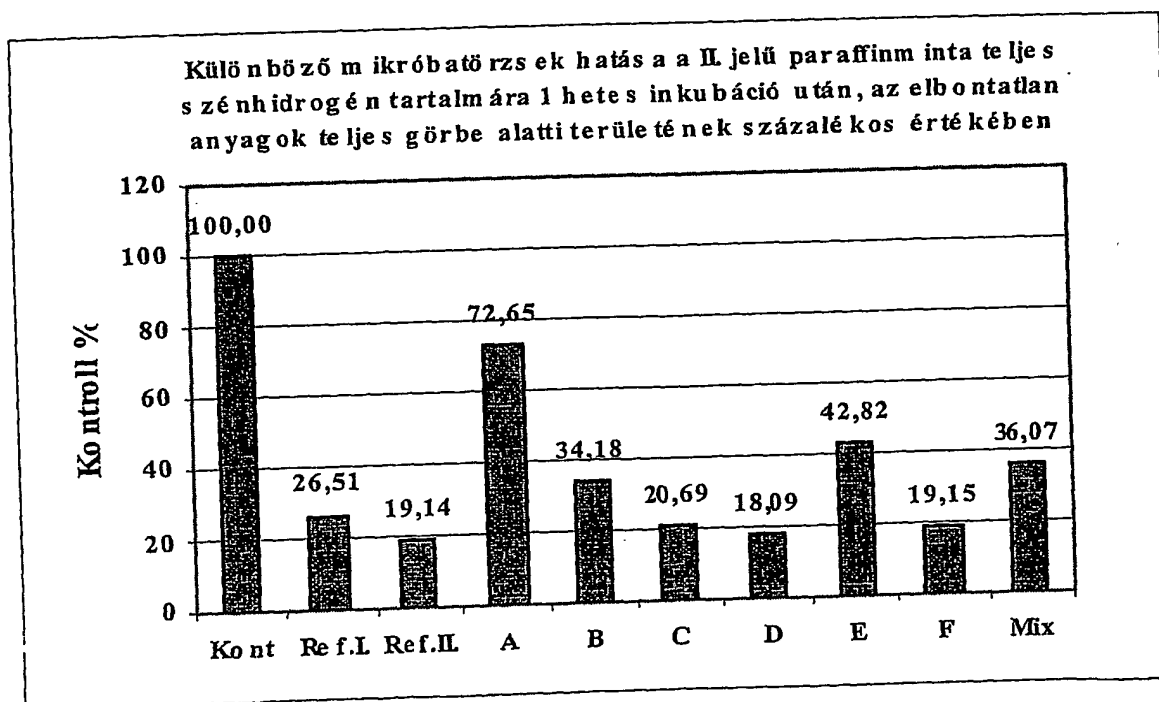
## Tenzidhatás kimutatása



2. ábra



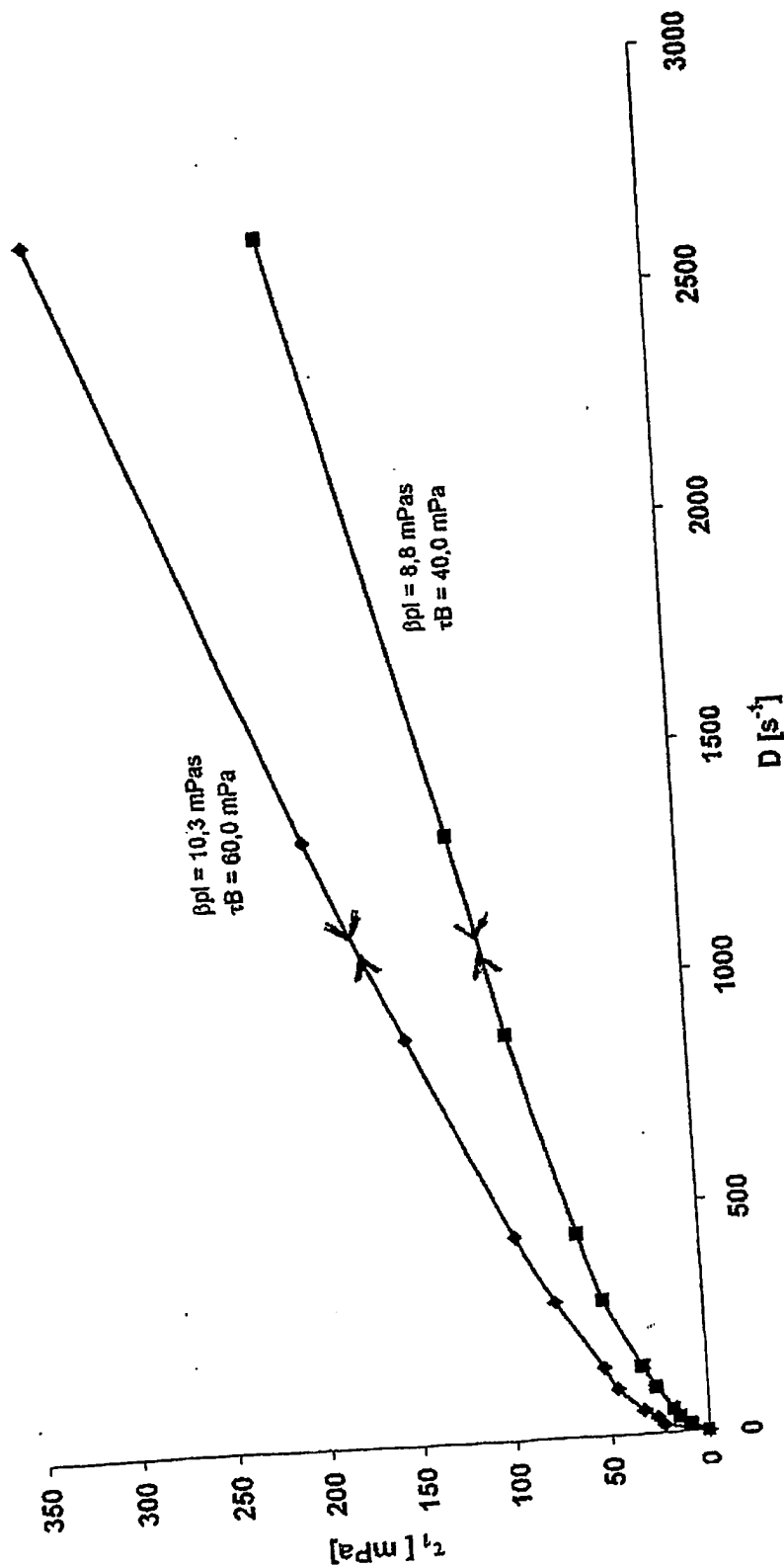
3/a. ábra



3/b. ábra

# A baktériumos kezelés hatása a Battonya K-51# kútfejminta 15°C-on mért reológiai sajátosságaira

.-\* - kezelés előtti -- -- kezelés után



4a. ábra



5a. ábra



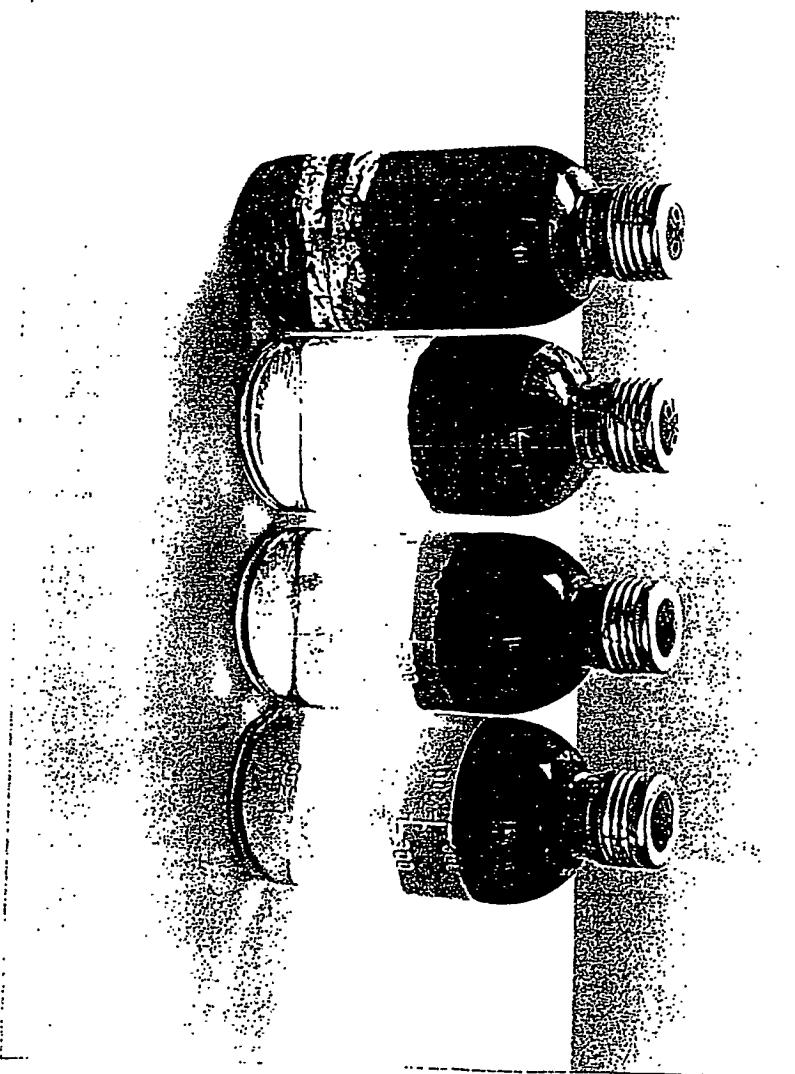
Battonya K-83 emulzió. Kezelés előtti minta  
/2001. 09.04./

5b. ábra



Battonya K-83 emulzió baktériumos kezelés után

## 6. ábra



**A Battonya-Kelet-83 jelű kút termelvényének (emulzió) sze-  
parálódása**

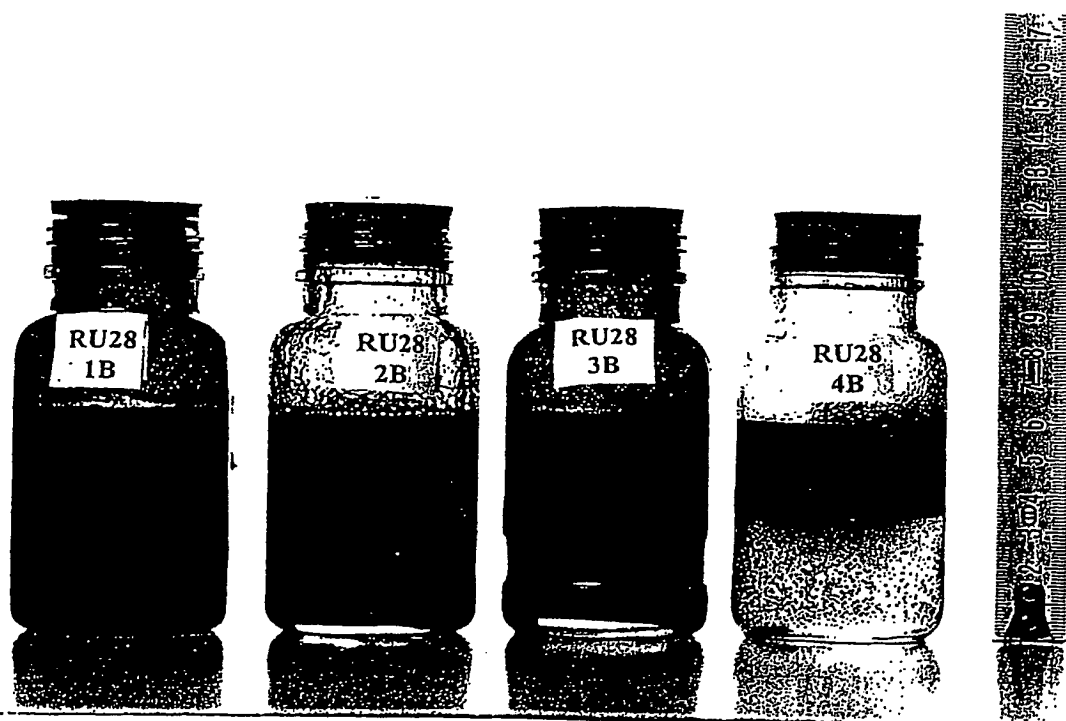
1. A kút petrol-biokémiai kezelése előtt, 2. A kút első kezelése után, 3. A kút második kezelése után, 4. A kút harmadik kezelése után



7.a. ábra. A Ruzsa-28 jelű kút termelvényének (emulzió) szeparálódása  
nyugalmi helyzet

1A. kontroll, kezeletlen emulzió  
3A. mikrobákkal kezelve

2A. ipari emulzióbontóval kezelve  
4A. petrol-biokémiai szuszpenzióval kezelve



7.b. ábra. A Ruzsa-28 jelű kút termelvényének (emulzió) szeparálódása  
összerázás után egy percel

1 B. kontroll, kezeletlen emulzió  
3 B. mikrobákkal kezelve

2 B. ipari emulzióbontóval kezelve  
4 B. petrol-biokémiai szuszpenzióval kezelve

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**